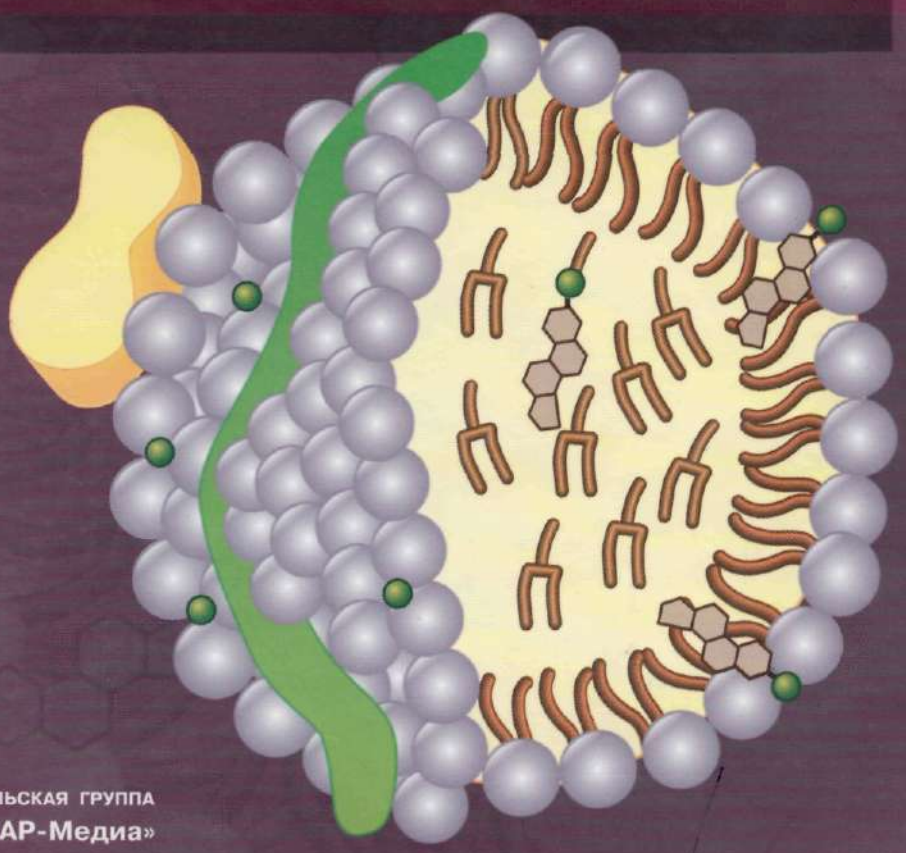
827612

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Под редакцией
чл.-корр. РАМН С.Е. Северина

УЧЕБНИК



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»

827612

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

С УПРАЖНЕНИЯМИ И ЗАДАЧАМИ

Под редакцией
чл.-корр. РАМН С.Е. Северина

УЧЕБНИК

Рекомендовано ГОУ ВПО Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова в качестве учебника по дисциплине «Биологическая химия» для студентов учреждений высшего профессионального образования, обучающихся по специальностям 060101.65 «Лечебное дело», 060104.65 «Медико-профилактическое дело», 060108.65 «Фармация».

TOSHKENT TIBBIYOT
AKADEMIYASI KUTUBXONASI
№ 39249

ILMIY-TIBIY ADABIYOTLAR

Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2011

К

УДК 577(075.8)(076.1)(086.76)
ББК 28.072я73-4
Б63

Регистрационный номер рецензии 525 от 6 июля 2009 г.
ФГУ Федеральный институт развития образования

Б63 **Биологическая химия с упражнениями и задачами :** учебник / под ред. чл.-корр. РАМН С.Е. Северина. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с.: ил.

ISBN 978-5-9704-1755-3

В учебнике рассмотрены основные положения классической биологической химии, приведены сведения о структуре и свойствах молекул организма человека, молекулярных основах физиологических функций человека. Рассмотрены биохимические особенности важнейших органов и тканей. Изложены современные представления о молекулярных основах некоторых наиболее распространенных патологических состояний. В учебник введены ситуационные задачи и тесты, обеспечивающие студентам активное изучение материала. Имеется электронный носитель с дополнительными материалами к книге.

Учебник предназначен для студентов медицинских и фармацевтических вузов, аспирантам и преподавателям биологической химии.

УДК 577(075.8)(076.1)(086.76)
ББК 28.072я73-4

Права на данное издание принадлежат ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа». Воспроизведение и распространение в каком бы то ни было виде части или целого издания не могут быть осуществлены без письменного разрешения ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа».

ISBN 978-5-9704-1755-3

© Коллектив авторов, 2010
© ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2011
© ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», оформление, 2011

АВТОРЫ

Северин Сергей Евгеньевич, д-р хим. наук, проф., чл.-корр. РАМН, зав. кафедрой биохимии ММА им. И.М. Сеченова, генеральный директор Московского научно-исследовательского института Медицинской экологии, редактор издания.

Авдеева Людмила Викторовна, канд. биол. наук, доц. кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова.

Губарева Александра Евгеньевна, канд. мед. наук, доцент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова, ответственный автор издания

***Алейникова Татьяна Леонидовна**, канд. биол. наук, доцент кафедры биохимии* ММА им. И.М. Сеченова, ответственный автор издания

Андрианова Людмила Евгеньевна, канд. биол. наук, доцент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Белушкина Наталья Николаевна, д-р биол. наук, проф. кафедры биохимии ММА им. И.М. Сеченова, ученый секретарь НИИ Молекулярная медицина ММА им. И.М. Сеченова

Борисов Юрий Петрович, канд. биол. наук доцент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Волкова Наталья Петровна, канд. биол. наук, доцент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Воробьева Светлана Анатольевна, канд. биол. наук, доцент кафедры биологической *химии ММА им. И.М. Сеченова*

Глухов Александр Иванович, д-р биол. наук, проф. кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Голенченко Вера Александровна, канд. биол. наук, доцент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Зезеров Евгений Гаврилович, д-р биол. наук, проф. кафедры биологической химии *ММА им. И.М. Сеченова*

Корлякова Ольга Вениаминовна, канд. биол. наук, доцент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Лихачева Нина Викторовна, канд. биол. наук, доцент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Рубцова Галина Васильевна, канд. биол. наук, доцент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Силаева Светлана Алексеевна, канд. биол. наук, проф. кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Силуянова Светлана Николаевна, канд. биол. наук, доцент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Титова Татьяна Алексеевна, канд. биол. наук, доцент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Тунцова Ольга Игоревна, канд. мед. наук, ассистент кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Черникова Наталия Викторовна, канд. технич. наук, ст. преподаватель кафедры биологической химии ММА им. И.М. Сеченова

Составители CD: Борисов Ю.П., Голенченко В.А., Губарева А.Е.

ОГЛАВЛЕНИЕ

МОДУЛЬ 1. СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ (*Н.П. ВОЛКОВА*)

Модульная единица 1. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОНОМЕРНЫХ БЕЛКОВ И ОСНОВЫ ИХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ

Темы:

1.1. Структурная организация белков. Этапы формирования нативной конформации белков 16

1.2. Основы функционирования белков. Лекарства как лиганды, влияющие на функцию белков. 25

1.3. Денатурация белков и возможность их спонтанной ренативации 29

Модульная единица 2. ОЛИГОМЕРНЫЕ БЕЛКИ КАК МИШЕНИ РЕГУЛЯТОРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ. СТРУКТУРНО- ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ МНОГООБРАЗИЕ БЕЛКОВ. МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БЕЛКОВ

Темы:

1.4. Особенности строения и функционирования олигомерных белков на примере гемоглобина 39

1.5. Поддержание нативной конформации белков в условиях клетки 48

1.6. Многообразие белков, семейства белков на примере иммуноглобулинов 50

1.7. Физико-химические свойства белков и методы их разделения . . . 55

МОДУЛЬ 2. ЭНЗИМОЛОГИЯ (*Н.Н. БЕЛУШКИНА*)

Модульная единица 1. ФЕРМЕНТЫ КАК БЕЛКОВЫЕ КАТАЛИЗАТОРЫ

Темы:

2.1. Особенности ферментов как белковых катализаторов 66

2.2. Активный центр и специфичность действия ферментов 67

2.3. Механизм действия ферментов. 68

2.4. Кофакторы и коферменты 70

2.5. Классификация и номенклатура ферментов. 73

2.6. Основы кинетики ферментативного катализа 76

Модульная единица 2. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ. МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ЭНЗИМОЛОГИИ

Темы:

2.7. Ингибиторы активности ферментов 87

2.8. Регуляция активности ферментов 93

2.9. Применение ферментов и исследование их активности в медицине. 99

2.10. Энзимопатии. 103

МОДУЛЬ 3. МАТРИЧНЫЕ БИОСИНТЕЗЫ (*С.А. СИЛАЕВА, А.И. ГЛУХОВ, В.А. ГОЛЕНЧЕНКО*)

Модульная единица 1. БИОСИНТЕЗ ДНК И РНК. РЕПАРАЦИЯ ОШИБОК И ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК

Темы:

3.1. Строение и функции ДНК и РНК 114
3.2. Биосинтез ДНК (репликация) 118
3.3. Репарация ошибок и повреждений ДНК 122
3.4. Биосинтез РНК (транскрипция). Посттранскрипционные модификации РНК 124

Модульная единица 2. БИОСИНТЕЗ БЕЛКОВ. ИНГИБИТОРЫ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ. МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ

Темы:

3.5. Трансляция как механизм перевода генетической информации в фенотипические признаки 135
3.6. Ингибиторы матричных биосинтезов: лекарственные препараты и бактериальные токсины 140
3.7. Механизмы адаптивной регуляции активности генов у прокариотов и эукариотов 141

Модульная единица 3. МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ И ВОЗНИКНОВЕНИЯ РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ У ЭУКАРИОТОВ. ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ, НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ. ДНК-ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ

Темы:

3.8. Механизмы, обеспечивающие разнообразие белков у эукариотов 153
3.9. Механизмы генетической изменчивости: эволюционная изменчивость, полиморфизм белков. Наследственные болезни . . 157
3.10. Использование рекомбинантных ДНК в медицине. 160

МОДУЛЬ 4. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН (*В.А. ГОЛЕНЧЕНКО, Ю.П. БОРИСОВ*)

Темы:

4.1. Общая характеристика мембран. Строение и состав мембран . . . 172
4.2. Транспорт веществ через мембраны 177
4.3. Трансмембранная передача сигналов 180

МОДУЛЬ 5. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН (*Л.В. АВДЕЕВА, Г.В. РУБЦОВА*)

Модульная единица 1. ВЗАИМОСВЯЗЬ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ. ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ. МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ЦЕПЬ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

Темы:

5.1 Взаимосвязь обмена веществ и энергии 202
5.2 Тканевое дыхание 204
5.3 Митохондриальная цепь переноса электронов. 205
5.4 Окислительное фосфорилирование 206
5.5 Дыхательный контроль 208
5.6 Разобщение дыхания и синтеза АТФ 208
5.7 Терморегуляторная функция дыхания. 209
5.8 Ингибиторы тканевого дыхания 212

Модульная единица 2. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП КАТАБОЛИЗМА ПИЩЕВЫХ ВЕЩЕСТВ. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ И ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА (ОПК)

Темы:

5.9 Заключительный этап катаболизма пищевых веществ Специфические и общий пути катаболизма (ОПК). 219
5.10. Анаболические функции ОПК. 224
5.11 Регуляция ОПК 225
5.12. Гипоэнергетические состояния 228

МОДУЛЬ 6. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ (*Т.Л. АЛЕЙНИКОВА, Н.Н. БЕЛУШКИНА*)

Модульная единица 1. СТРОЕНИЕ, ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ УГЛЕВОДОВ. СИНТЕЗ И МОБИЛИЗАЦИЯ ГЛИКОГЕНА, РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ. НАРУШЕНИЯ ПЕРЕВАРИВАНИЯ УГЛЕВОДОВ, СИНТЕЗА И МОБИЛИЗАЦИИ ГЛИКОГЕНА

Темы:

6.1. Основные углеводы пищи. Строение, переваривание и всасывание 236
6.2. Трансмембранный перенос глюкозы и других моносахаридов из кишечника в кровь и из крови в клетки тканей. Пути превращения глюкозы в клетках 238
6.3. Синтез и мобилизация гликогена. Регуляция процессов. 241
6.4. Нарушения переваривания и всасывания углеводов, синтеза и распада гликогена. 250

МОДУЛЬ 5. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН (*Л.В. АВДЕЕВА, Г.В. РУБЦОВА*)

Модульная единица 1. ВЗАИМОСВЯЗЬ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ. ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ. МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ЦЕПЬ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

Темы:

5.1 Взаимосвязь обмена веществ и энергии 202
5.2 Тканевое дыхание 204
5.3 Митохондриальная цепь переноса электронов 205
5.4 Окислительное фосфорилирование 206
5.5 Дыхательный контроль 208
5.6 Разобщение дыхания и синтеза АТФ 208
5.7 Терморегуляторная функция дыхания 209
5.8 Ингибиторы тканевого дыхания 212

Модульная единица 2. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП КАТАБОЛИЗМА ПИЩЕВЫХ ВЕЩЕСТВ. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ И ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА (ОПК)

Темы:

5.9 Заключительный этап катаболизма пищевых веществ Специфические и общий пути катаболизма (ОПК) 219
5.10. Анаболические функции ОПК 224
5.11 Регуляция ОПК 225
5.12. Гипоэнергетические состояния 228

МОДУЛЬ 6. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ (*Т.Л. АЛЕЙНИКОВА, Н.Н. БЕЛУШКИНА*)

Модульная единица 1. СТРОЕНИЕ, ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ УГЛЕВОДОВ. СИНТЕЗ И МОБИЛИЗАЦИЯ ГЛИКОГЕНА, РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ. НАРУШЕНИЯ ПЕРЕВАРИВАНИЯ УГЛЕВОДОВ, СИНТЕЗА И МОБИЛИЗАЦИИ ГЛИКОГЕНА

Темы:

6.1. Основные углеводы пищи. Строение, переваривание и всасывание 236
6.2. Трансмембранный перенос глюкозы и других моносахаридов из кишечника в кровь и из крови в клетки тканей. Пути превращения глюкозы в клетках 238
6.3. Синтез и мобилизация гликогена. Регуляция процессов 241
6.4. Нарушения переваривания и всасывания углеводов, синтеза и распада гликогена 250

Модульная единица 2. КАТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ ПРЕВРАЩЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ

Темы:

6.5. Катаболизм глюкозы: аэробный и анаэробный гликолиз, аэробный распад глюкозы до CO_2 и H_2O 262

6.6. Биологическое значение катаболизма глюкозы, регуляция процесса. 265

6.7. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы 271

Модульная единица 3. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

Темы:

6.8. Синтез глюкозы (глюконеогенез) 284

6.9. Регуляция гликолиза и глюконеогенеза в печени 288

6.10. Регуляция содержания глюкозы в крови, гиперглюкоземия 294

МОДУЛЬ 7. БИОХИМИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

(*Л.Е. АНДРИАНОВА, С.А. ЛЕСНИЧУК, С.Н. СИЛУЯНОВА*)

Темы:

7.1. Коллаген 302

7.2. Эластин 310

7.3. Гетерополисахариды межклеточного матрикса 311

7.4. Неколлагеновые структурные белки межклеточного матрикса . . 314

7.5. Структурная организация межклеточного матрикса (суставной хрящ, базальные мембраны, субэпителиальные слои) 316

МОДУЛЬ 8. ОБМЕН ЛИПИДОВ (*А.Е. ГУБАРЕВА, Н.В. ЧЕРНИКОВА*)

Модульная единица 1. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ОСНОВНЫХ ЛИПИДОВ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА. ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ ЛИПИДОВ. ТРАНСПОРТ ЖИРОВ ХИЛОМИКРОНАМИ

Темы:

8.1. Строение и функции основных липидов организма человека . . 326

8.2. Переваривание и всасывание жиров. Ресинтез жиров в клетках слизистой оболочки кишечника 329

8.3. Хиломикроны – транспортная форма экзогенных жиров 331

Модульная единица 2. БИОСИНТЕЗ ВЫСШИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ЖИРОВ

Темы:

8.4. Биосинтез высших жирных кислот и его регуляция. 343

8.5. Синтез жиров в печени и жировой ткани. Регуляция синтеза жиров 353

8.6. Ожирение. 355

Модульная единица 3. ЖИРЫ, ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА КАК ИСТОЧНИКИ ЭНЕРГИИ. ЭЙКОЗАНОИДЫ, СТРОЕНИЕ, СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ

Темы:

8.7. Мобилизация жира. Гормональная регуляция мобилизации жиров 361

8.8. β – окисление жирных кислот – источник энергии для синтеза АТФ. Регуляция β – окисления 363

8.9. *Кетоновые тела: синтез и катаболизм. Кетоацидоз* 367

8.10. Производные полиеновых кислот – эйкозаноиды: строение и биологическое действие. 371

Модульная единица 4. ОБМЕН ХОЛЕСТЕРОЛА, ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ. ДИСЛИПОПРОТЕИНЕМИИ. БИОСИНТЕЗ И ФУНКЦИИ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ. ЖЕЛЧНОКАМЕННАЯ БОЛЕЗНЬ

Темы:

8.11. Холестерол, биологические функции, поступление с пищей и транспорт кровью экзогенного холестерола 385

8.12. Биосинтез холестерола и его регуляция 387

8.13. Биосинтез желчных кислот и их роль в поддержании гомеостаза холестерола в организме. Биохимия желчнокаменной болезни . . . .

8.14. Роль липопротеинов в транспорте холестерола 391

8.15. Типы дислипопротеинемий. Биохимические основы патогенеза и лечения атеросклероза 396

МОДУЛЬ 9. ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ (*Н.В. ЛИХАЧЕВА, О.В. КОРЛЯКОВА*)

Модульная единица 1. РОЛЬ БЕЛКОВ В ПИТАНИИ. ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ И ВСАСЫВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ. ПРОЦЕССЫ ТРАНСАМИНИРОВАНИЯ И ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ АМИНОКИСЛОТ

Темы:

9.1. Роль белков в питании. Азотистый баланс 408

9.2. Переваривание белков в желудке и кишечнике, всасывание аминокислот 409

9.3. Трансаминирование и дезаминирование аминокислот 417

Модульная единица 2. ИСТОЧНИКИ АММИАКА В ОРГАНИЗМЕ, ПРИЧИНЫ ЕГО ТОКСИЧНОСТИ И СПОСОБЫ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ. ГИПЕРАММОНИЕМИЯ. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕЗАЗОТИСТЫХ ОСТАТКОВ АМИНОКИСЛОТ

Темы:

9.4. Образование аммиака, причины его токсичности. Обезвреживание аммиака и его транспорт в ткани 429

9.5. Орнитиновый цикл и его биологическая роль. Выведение аммонийных солей 433

9.6. Гипераммониемия и ее причины 437

9.7. Пути использования безазотистых остатков аминокислот 440

9.8. Биосинтез заменимых аминокислот 442

Модульная единица 3: ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ: СЕРИНА, ГЛИЦИНА, МЕТИОНИНА, ФЕНИЛАЛАНИНА, ТИРОЗИНА И ГИСТИДИНА. РОЛЬ ВИТАМИНОВ B_{12}, B_6 И ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С НАРУШЕНИЕМ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ. СИНТЕЗ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ И ИНАКТИВАЦИЯ БИОГЕННЫХ АМИНОВ

Темы:

9.9. Обмен серина и глицина. Роль фолиевой кислоты 453
9.10. Обмен метионина. Реакции трансметилирования. 456
9.11. Обмен фенилаланина, тирозина и гистидина в разных тканях . . 460
9.12. Наследственные заболевания, связанные с нарушением обмена аминокислот 463
9.13. Биогенные амины: синтез, инактивация, биологическая роль. . . 465

МОДУЛЬ 10. ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ (*С.А. СИЛАЕВА, О.И. ТУНЦОВА*)

Темы:

10.1. Биосинтез и катаболизм пуриновых рибонуклеотидов. Заболевания, связанные с нарушением их метаболизма 477
10.2. Биосинтез и катаболизм пиримидиновых рибонуклеотидов. Оротацидурия 481
10.3. Биосинтез дезоксирибонуклеотидов и его регуляция. Иммунодефициты 484
10.4. Механизмы действия противовирусных и противоопухолевых препаратов на ферменты синтеза рибо- и дезоксирибонуклеотидов. 487

МОДУЛЬ 11. ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА (*С.А. ВОРОБЬЕВА, Л.В. АВДЕЕВА*)

Модульная единица 1. РОЛЬ ГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ, ЛИПИДОВ, АМИНОКИСЛОТ ПРИ НОРМАЛЬНОМ РИТМЕ ПИТАНИЯ

Темы:

11.1. Роль гормонов в регуляции метаболизма 497
11.2. Механизмы передачи гормональных сигналов в клетки 499
11.3. Строение и синтез гормонов 500
11.4. Регуляция обмена основных энергоносителей при нормальном ритме питания 507
11.5. Изменение метаболизма при гипо- и гиперсекреции гормонов . . .511

Модульная единица 2. БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ ПРИ ГОЛОДАНИИ И САХАРНОМ ДИАБЕТЕ.

Темы:

11.6. Изменение гормонального статуса и метаболизма при голодании. 520
11.7. Изменения гормонального статуса и метаболизма при сахарном диабете 523

Модульная единица 3. РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА. РОЛЬ ВАЗОПРЕССИНА, АЛЬДОСТЕРОНА И РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА CA^{2+} И ФОСФАТОВ

Темы:

11.8. Регуляция водно-солевого обмена 533

11.9. Регуляция обмена Ca^{2+} и фосфатов. Строение, синтез и механизм действия паратгормона, кальцитриола и кальцитонина 539

МОДУЛЬ 12. ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ПЕЧЕНИ (*С.Н. СИЛУЯНОВА, С.А. ЛЕСНИЧУК, Л.Е. АНДРИАНОВА, Е.Г. ЗЕЗЕРОВ*)

Темы:

12.1. Механизмы обезвреживания токсических веществ 550

12.2. Обезвреживание продуктов катаболизма аминокислот в кишечнике 555

12.3. Биотрансформация лекарств 557

12.4. Метаболизм и обезбреживание этанола 559

12.5. Химический канцерогенез 561

МОДУЛЬ 13. МЕТАБОЛИЗМ ГЕМА И ОБМЕН ЖЕЛЕЗА (*Т.А. ТИТОВА, С.Н. СИЛУЯНОВА*)

Темы:

13.1. Синтез гема и его регуляция 570

13.2. Обмен железа 572

13.3. Катаболизм гема 575

Модуль 14. БИОХИМИЯ КРОВИ (*Т.А. ТИТОВА*)

Темы:

14.1. Метаболизм эритроцитов 585

14.2. Особенности метаболизма фагоцитирующих клеток 588

14.3. Основные биохимические механизмы гемостаза 589

14.4. Основные свойства белковых фракций крови и значения их определения дпя диагностики заболеваний 599

Предметный указатель 609

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

А – аденин
АДГ – антидиуретический гормон
АКТГ – адренокортикотропный гормон
АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспартатаминотрансфераза
АЦ – аденилатциклаза
ГАМ К – у-аминомасляная кислота
ГТ – глутатионтрансфераза
ДАГ – диацилглицерин
ДГБП – дигидробиоптерин
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ДН Каза – дезоксирибонуклеаза
ДНП – дезоксирибонуклеопротеины
ДОФА – диоксифенилаланин
Дофамин – диоксифенилэтиламин
Дфф – диизопропилфторфосфат
ИФ-3 – инозитолтрифосфат
К – *кальмодулин*
КК – креатинкиназа
Л ВП – липопротеины высокой плотности
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
ЛНП – липопротеины низкой плотности
ЛОНП – липопротеины очень низкой плотности
ЛПП – липопротеины промежуточной плотности
МАО – моноаминоксидаза
мРНК – матричная РНК
мяРНП – малые ядерные рибонуклеопротеины
ОА – оксалоацетат
ОПК – общий путь катаболизма
ПВК – пировиноградная кислота
ПКА (сАМР-зависимая) – протенкиназа А
ПКС – протеинкиназа С
ПФ – пиридоксальфосфат
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
РНКаза – рибонуклеаза
рРНК – рибосомная РНК
СДГ – сукцинатдегидрогеназа
Т – тимин
ТАГ – триацилглицерины
ТГБП – тетрагидробиоптерин
ТГФК (Н4Ф) – тетрагидрофолиевая кислота
ТПР – тиаминпирофосфат
тРНК – транспортная РНК
ФИФ – (ФИ-4,5-бисфосфат) — фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат
ФЛС – фосфолипаза С
ФРДФ – 5-фосфорибозил-1-дифосфат

ФС – фосфатидилсерин
ЦНС – центральная нервная система
ЦТК – цикл трикарбоновых кислот
ЩУК – щавелевоуксусная кислота
ЭР – эндоплазматический ретикулум
ADP – аденозиндифосфат
AMP – аденозинмонофосфат
ATP – аденозинтрифосфат
ATPаза – аденозинтрифосфатаза
C – цитозин
cAMP – циклический аденозинмонофосфат
CDP – цитидиндифосфат
CMP – цитидинмонофосфат
CTP – цитидинтрифосфат
dATP – дезоксиаденозинтрифосфат
dCTP – дезоксицитидинтрифосфат
dGTP – дезоксигуанозинтрифосфат
dTTP – дезокситимидинтрифосфат
FAD – окисленный флавинадениндинуклеотид
FADH2 – *восстановленный флавинадениндинуклеотид*
FMN – окисленный флавинмононуклеотид
FMNH2 – восстановленный флавинмононуклеотид
G – гуанин
GDP – гуанозиндифосфат
Gi – G-ингибирующий белок
Gs – G-стимулирующий белок (ГТФ-связывающий белок)
GSSG – окисленный глутатион
GSH – глутатион
GMP – гуанозинмонофосфат
GTP – гуанозинтрифосфат
HЬ – гемоглобин
IMP – инозинмонофосфат
KoA – кофермент (коэнзим) A (HSKoA – коэнзим A)
KoQ – кофермент (коэнзим) Q
NAD – окисленный никотинамидадениндинуклеотид
NADH – восстановленный никотинамидадениндинуклеотид
NADP – окисленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат
NADPH – восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат
PAPS – 3-фосфоаденозин-5-фосфосульфат
P| (H3PO4) – фосфат неорганический
PPj (H4P2O7) – пирофосфат неорганический
SAT – S-аденозилгомоцистеин
SAM – S-аденозилметионин
U – урацил
U DP – уридиндифосфат
U DP – глюкуронат – уридиндифосфоглюкуроновая кислота
UMP – уридинмонофосфат
UTP – уридинтрифосфат
XMP – ксантозинмонофосфат

ОТ АВТОРОВ

Биохимия — одна из наиболее динамично развивающихся наук, изучающих процессы в живых организмах. Любой физиологический или патологический процесс можно считать досконально изученным, если его можно описать на молекулярном уровне. Действия врача будут наиболее успешными и щадящими по отношению к организму больного, если ему понятны молекулярные механизмы взаимодействия лекарств и других способов воздействия на организм, с реакциями, происходящими в организме человека. Поэтому студенты, изучающие биохимию, должны понимать ее базовую роль для изучения других медицинских дисциплин.

Данный учебник «Биологическая химия» предназначен студентам, аспирантам, преподавателям медицинских и фармацевтических вузов, научным сотрудникам научно-исследовательских институтов для изучения биологической химии организма человека.

При написании учебника использована модульная технология структурирования учебного материала, т.е. весь материал учебника разделен на модули, которые включают несколько модульных единиц, описывающих функционально связанные процессы. Каждая модульная единица содержит как обучающий, так и контролирующий материалы. В учебник введены рубрики: «Задания для внеаудиторной работы», «Задания для самоконтроля» и ответы к ним, «Основные термины и понятия», «Задания для аудиторной работы». Каждая из рубрик играет свою особую роль в усвоении материала — так задания для внеаудиторной работы помогают студентам самостоятельно разобраться в теоретическом материале модульной единицы. «Задания для самоконтроля» позволяют студенту самому проверить усвоение основных положений изучаемой темы. В рубрике «Основные термины и понятия» мы обращаем внимание обучающегося на главные и новые для него термины и понятия, которые будут далее использоваться при изучении биохимии и других медицинских дисциплин. Рубрика «Задания для аудиторной работы» дает возможность под контролем преподавателя решить несколько ситуационных задач, моделирующих физиологические ситуации или клинические случаи, что является важным мотивирующим фактором для изучения биохимии будущими специалистами в области медицины. Часть задач и тестов этой рубрики и рубрики «Задания для самоконтроля» являются результатом совместной работы преподавателей и студентов, работающих в программе для наиболее успешных студентов «Творческая личность» в рамках национального проекта в сфере образования. Нам приятно назвать фамилии студентов, чьи работы вошли в данный учебник: Аленчева Э., Арутюнян Р., Бахарев Е., Беркович З., Бойко В., Бражникова Т., Бунина А., Васина М., Грицун В., Королев П., Кубанова Ф., Лошкарева О., Мамедова П., Нога В., Патченская И., Саушкина А., Семенова Е., Хлопотина А., Шкондин А., Щербатюк Р.

Биохимия становится все более важной базой для изучения патогенеза болезней человека, разработки новых методов диагностики и лечения. Поэтому во многие разделы учебника включена новая информация.

Книга дополнена DVD-диском, который включает экзаменационные тестовые задания с ответами, примеры решения ситуационных задач, а также позволяет познакомиться со схемами многих важных процессов, выполненных в виде анимации. «Живая» иллюстрация должна помочь студентам разобраться в сложных схемах реакций, протекающих в клетках in vivo: репликации, репарации, биосинтезе белка, энергетическом обмене, а также представить этапы полимеразной цепной реакции (ПЦР), широко используемого в диагностике наследственных и приобретенных патологий, идентификации личности.

Благодарю коллектив авторов и особенно группу в составе **доц. А.Е. Губаревой, доц. В.А. Голенченко, доц. Л.В. Авдеевой, проф. С.А. Силаевой** за помощь в редактировании учебника и организацию работы коллектива авторов.

Зав. каф. биохимии ММА им. И.М. Сеченова, чл.-корр. РАМН, проф. С.Е. Северин.

Желаем Вам успеха!

Модуль 1

СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

Структура модуля	Темы
Модульная единица 1	1.1. Структурная организация белков. Этапы формирования нативной конформации белков 1.2. Основы функционирования белков. Лекарства как лиганды, влияющие на функцию белков 1.3. Денатурация белков и возможность их спонтанной ренативации
Модульная единица 2	1.4. *Особенности строения и функционирования олигомерных белков на примере гемоглобина* 1.5. Поддержание нативной конформации белков в условиях клетки 1.6. Многообразие белков. Семейства белков на примере иммуноглобулинов 1.7. Физико-химические свойства белков и методы их разделения

Модульная единица 1
СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОНОМЕРНЫХ БЕЛКОВ И ОСНОВЫ ИХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ

Цели изучения

Уметь:

1. Использовать знания об особенностях структуры белков и зависимости функций белков от их структуры для понимания механизмов развития наследственных и приобретенных протеинопатий.
2. Объяснять механизмы лечебного действия некоторых лекарств как лигандов, взаимодействующих с белками и изменяющих их активность.
3. Использовать знания о строении и конформационной лабильности белков для понимания их структурно-функциональной неустойчивости и склонности к денатурации в изменяющихся условиях.
4. Объяснять применение денатурирующих агентов в качестве средств для стерилизации медицинского материала и инструментов, а также в качестве антисептиков.

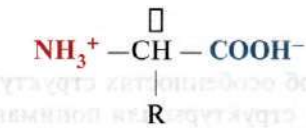
Знать:

1. Уровни структурной организации белков.
2. Значение первичной структуры белков, определяющей их структурное и функциональное многообразие.
3. Механизм формирования в белках активного центра и его специфическое взаимодействие с лигандом, лежащее в основе функционирования белков.
4. Примеры влияния экзогенных лигандов (лекарств, токсинов, ядов) на конформацию и функциональную активность белков.
5. Причины и следствия денатурации белков, факторы, вызывающие денатурацию.
6. Примеры использования денатурирующих факторов в медицине в качестве антисептиков и средств для стерилизации медицинских инструментов.

ТЕМА 1.1. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКОВ. ЭТАПЫ ФОРМИРОВАНИЯ НАТИВНОЙ КОНФОРМАЦИИ БЕЛКОВ

Белки — это полимерные молекулы, мономерами которых являются всего 20 α-аминокислот. Набор и порядок соединения аминокислот в белке определяется строением генов в ДНК индивидумов. Каждый белок в соответствии с его специфической структурой выполняет свойственную ему функцию. Набор белков данного организма определяет его фенотипические особенности, а также наличие наследственных болезней или предрасположенность к их развитию.

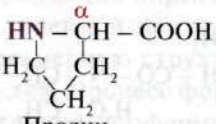
1. Аминокислоты, входящие в состав белков. Пептидная связь. Белки — полимеры, построенные из мономеров — 20 α-аминокислот, общая формула которых



Аминокислоты различаются по строению, размерам, физико-химическим свойствам радикалов, присоединенных к α-углеродному атому. Функциональные группы аминокислот определяют особенности свойств разных α-аминокислот. Встречающиеся в α-аминокислотах радикалы можно разделить на несколько групп:

- анионные группы $-COO^-$;
- катионные группы $-NH_3^+$, $=NH^+$, $NH_2-C=NH_2^+$;
- полярные незаряженные группы $-OH$, $-CONH_2$, $-SH$;
- неполярные группы $-CH_3$, алифатические цепи, ароматические циклы.

Пролин, в отличие от других 19 мономеров белков, не аминокислота, а иминокислота, радикал в пролине связан как с α-углеродным атомом, так и с иминогруппой



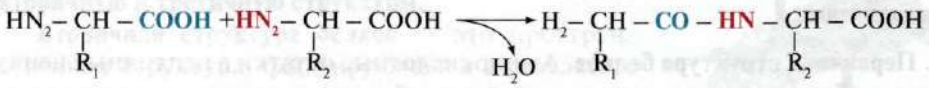
Пролин

Аминокислоты различаются по растворимости в воде. Это связано со способностью радикалов взаимодействовать с водой (гидратироваться).

К **гидрофильным** относятся радикалы, содержащие анионные, катионные и полярные незаряженные функциональные группы.

К **гидрофобным** относятся радикалы, содержащие метильные группы, алифатические цепи или циклы.

2. Пептидные связи соединяют аминокислоты в пептиды. При синтезе пептида α-карбоксильная группа одной аминокислоты взаимодействует с α-аминогруппой другой аминокислоты с образованием **пептидной связи**:



Белки представляют собой полипептиды, т.е. линейные полимеры α-аминокислот, соединенных пептидной связью (рис. 1.1.)

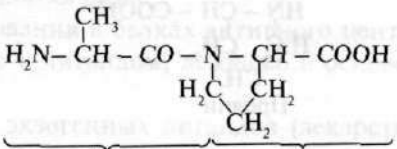
Рис. 1.1. Термины, используемые при описании строения пептидов

Мономеры аминокислот, входящих в состав полипептидов, называются **аминокислотными остатками**. Цепь повторяющихся групп **–NH–CH–CO –** образует **пептидный остов**. Аминокислотный остаток, имеющий свободную α-аминогруппу, называется N-концевым, а имеющий свободную α-карбоксильную группу – С-концевым. Пептиды записывают и читают с N-конца к С-концу.

Пептидная связь, образуемая иминогруппой пролина, отличается от других пептидных связей: у атома азота пептидной группы отсутствует водород,

TOSHKENT TIBBIYOT AKADEMIYASI KUTUBXONASI № 39249
ILMIY-TIBIY ADABIYOTLAR

вместо него имеется связь с радикалом, в результате одна сторона цикла включается в пептидный остов:



Аланилпролин

Пептиды различаются аминокислотным составом, количеством аминокислот и порядком соединения аминокислот, например, Сер-Ала-Глу-Гис и Гис-Глу-Ала-Сер — два разных пептида.

Пептидные связи очень прочные, и для их химического неферментативного гидролиза требуются жесткие условия: анализируемый белок гидролизуют в концентрированной соляной кислоте при температуре около 110° в течение 24 часов. В живой клетке пептидные связи могут разрываться с помощью **протеолитических ферментов**, называемых **протеазами** или **пептидгидролазами**.

3. Первичная структура белков. Аминокислотные остатки в пептидных цепях разных белков чередуются не случайным образом, а расположены в определенном порядке. Линейная последовательность или порядок чередования аминокислотных остатков в полипептидной цепи называется **первичной структурой белка**.

Первичная структура каждого индивидуального белка закодирована в молекуле ДНК (в участке, называемом геном) и реализуется в ходе транскрипции (переписывания информации на мРНК) и трансляции (синтез первичной структуры белка). Следовательно, первичная структура белков индивидуального человека — наследственно передаваемая от родителей детям информация, определяющая особенности строения белков данного организма, от которых зависит функция имеющихся белков (рис. 1.2.).

ДНК (ген)
↓ ***реализация генетической информации***
Первичная структура белка
↓ **фолдинг**
Конформация белка (пространственная структура)

Рис. 1.2. Взаимосвязь между генотипом и конформацией белков, синтезирующихся в организме индивидума

Каждый из примерно 100 000 индивидуальных белков в организме человека имеет **уникальную** первичную структуру. В молекулах одного типа белка (например, альбумина) одинаковое чередование аминокислотных остатков, что отличает альбумин от любого другого индивидуального белка.

Последовательность аминокислотных остатков в пептидной цепи можно рассматривать как форму записи информации. Эта информация определяет пространственную укладку линейной пептидной цепи в более компактную трехмерную структуру, называемую **конформацией** белка. Процесс формирования функционально активной конформации белка носит название **фолдинг**.

4. Конформация белков. Свободное вращение в пептидном остове возможно между атомом азота пептидной группы и соседним α-углеродным атомом, а также между α-углеродным атомом и углеродом карбонильной группы. Вследствие взаимодействия функциональных групп аминокислотных остатков первичная структура белков может приобретать более сложные пространственные структуры. В глобулярных белках различают два основных уровня укладки конформации пептидных цепей: **вторичную** и **третичную структуры**.

Вторичная структура белков — это пространственная структура, формирующаяся в результате образования водородных связей между функциональными группами –C=O и — NH– пептидного остова. При этом пептидная цепь может приобретать регулярные структуры двух типов: **α-спирали** и **β-структуры**.

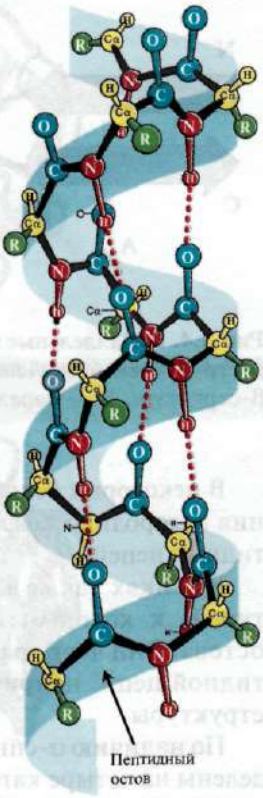


Рис. 1.3. Вторичная структура белка — α-спираль

В **α-спирали** водородные связи образуются между атомом кислорода карбонильной группы и водородом амидного азота 4-й от него аминокислоты; боковые цепи аминокислотных остатков располагаются по периферии спирали, не участвуя в образовании вторичной структуры (рис. 1.3.).

Объемные радикалы или радикалы, несущие одинаковые заряды, препятствуют формированию α-спирали. Остаток пролина, имеющий кольцевую структуру, прерывает α-спираль, так как из-за отсутствия водорода у атома азота в пептидной цепи невозможно образовать водородную связь. Связь между азотом и α-углеродным атомом входит в состав цикла пролина, поэтому пептидный остов в этом месте приобретает изгиб.

β-Структура формируется между линейными областями пептидного остова одной полипептидной цепи, образуя при этом складчатые структуры. Полипептидные цепи или их части могут формировать **параллельные** или **антипараллельные β-структуры**. В первом случае N- и C-концы взаимодействующих пептидных цепей совпадают, а во втором — имеют противоположное направление (рис. 1.4).

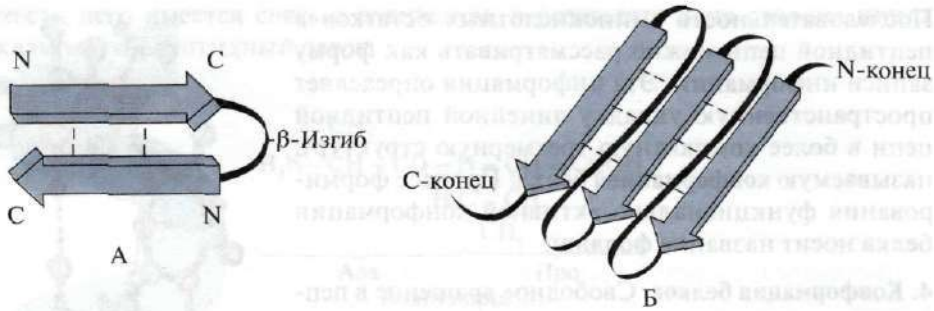


Рис. 1.4. Параллельные и антипараллельные β-складчатые структуры
β-структуры обозначены широкими стрелками: А — Антипараллельная β-структура. Б — Параллельные β-складчатые структуры

В некоторых белках β-структуры могут формироваться за счет образования водородных связей между атомами пептидного остова разных полипептидных цепей.

В белках также встречаются **области с нерегулярной вторичной** структурой, к которым относят изгибы, петли, повороты полипептидного остова. Они часто располагаются в местах, где меняется направление пептидной цепи, например, при формировании параллельной β-складчатой структуры.

По наличию α-спиралей и β-структур глобулярные белки могут быть разделены на четыре категории.

В **первую категорию** включены белки, в которых имеются только α-спирали, например, миоглобин и гемоглобин (рис. 1.5).

Во **вторую категорию** входят белки, в которых имеются и α-спирали, и β-структуры, например триозофосфатизомераза или похожий по структуре домен пируваткиназы (рис. 1.6).

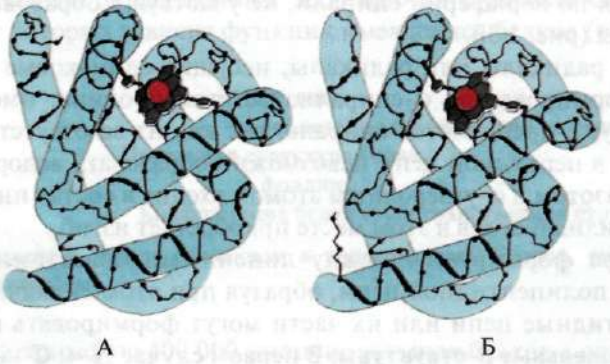


Рис. 1.5. Вторичная структура миоглобина (А) и β-цепи гемоглобина (Б), содержащие восемь α-спиралей

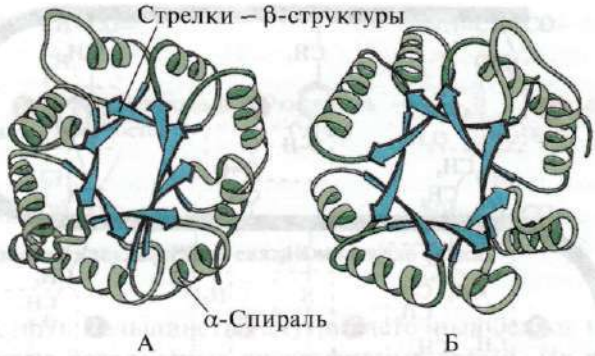


Рис. 1.6. Вторичная структура триозофосфатизомеразы и домена пируваткиназы

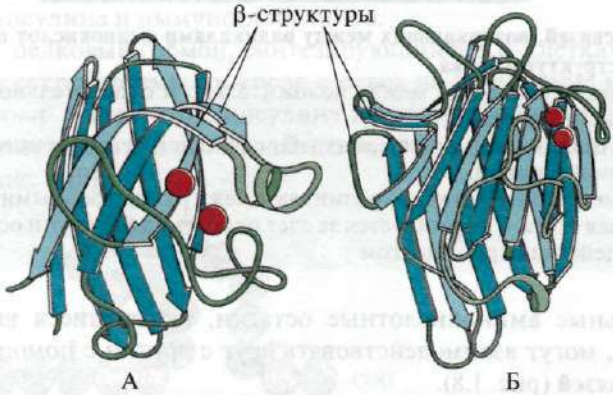


Рис. 1.7. Вторичная структура константного домена иммуноглобулина (А) и фермента супероксиддисмутазы (Б)

В **третью категорию** включены белки, имеющие только вторичную β-структуру. Такие структуры обнаружены в иммуноглобулинах, ферменте супероксиддисмутазе (рис. 1.7).

В **четвертую категорию** включены белки, имеющие в своем составе незначительное количество регулярных вторичных структур. К таким белкам можно отнести небольшие, богатые цистеином белки или металлопротеины.

Третичная структура белка — тип конформации, образующийся за счет взаимодействий между радикалами аминокислот, которые могут находиться на значительном расстоянии друг от друга в пептидной цепи. Большинство белков при этом формируют пространственную структуру, напоминающую глобулу (глобулярные белки).

Так как гидрофобные радикалы аминокислот имеют тенденцию к объединению с помощью так называемых **гидрофобных взаимодействий** и межмолекулярных ван-дер-ваальсовых сил, внутри белковой глобулы образуется плотное гидрофобное ядро. Гидрофильные ионизированные и неионизированные радикалы в основном располагаются на поверхности белка и определяют его растворимость в воде.

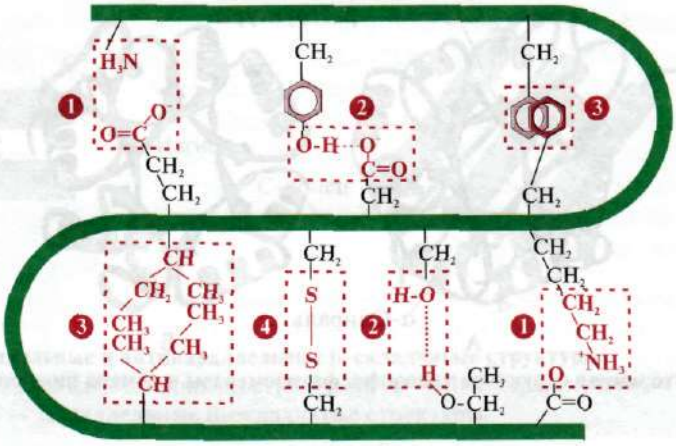


Рис. 1.8. Типы связей, возникающих между радикалами аминокислот при формировании третичной структуры белка

1 — **ионная связь** — возникает между положительно и отрицательно заряженными функциональными группами;

2 — **водородная связь** — возникает между гидрофильной незаряженной и любой другой гидрофильной группой;

3 — ***гидрофобные взаимодействия*** — *возникают между гидрофобными радикалами;*

4 — **дисульфидная связь** — формируется за счет окисления SH-групп остатков цистеина и их взаимодействия друг с другом

Гидрофильные аминокислотные остатки, оказавшиеся внутри гидрофобного ядра, могут взаимодействовать друг с другом с помощью **ионных** и **водородных связей** (рис. 1.8).

Ионные и водородные связи, а также гидрофобные взаимодействия *относятся к числу слабых: их энергия ненамного превышает энергию теп*лового движения молекул при комнатной температуре. Конформация белка поддерживается за счет возникновения множества таких слабых связей. Так как атомы, из которых состоит белок, находятся в постоянном движении, то *возможен разрыв одних слабых связей и образование других, что приводит* к небольшим перемещениям отдельных участков полипептидной цепи. Это свойство белков изменять конформацию в результате разрыва одних и образования других слабых связей называется **конформационной лабильностью**.

В *организме человека функционируют системы, поддерживающие* **гомеостаз** — постоянство внутренней среды в определенных допустимых для здорового организма пределах. В условиях гомеостаза небольшие изменения конформации не нарушают общую структуру и функцию белков. Функционально активная конформация белка называется ***нативной конформацией***. Изменение внутренней среды (например, концентрации глюкозы, ионов Са, протонов и т.д.) приводит к изменению конформации и нарушению функций белков.

Третичная структура некоторых белков стабилизирована **дисульфидными связями**, образующимися за счет взаимодействия –SH групп двух остатков

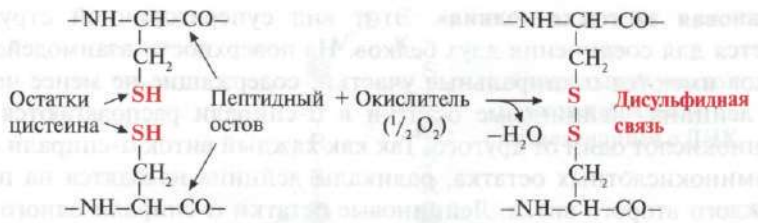


Рис. 1.9. Образование дисульфидной связи в молекуле белка

цистеина (рис. 1.9). Большинство внутриклеточных белков не имеет в третичной структуре ковалентных дисульфидных связей. Их наличие характерно для секретируемых клеткой белков, что обеспечивает их большую стабильность во внеклеточных условиях. Так, дисульфидные связи имеются в молекулах инсулина и иммуноглобулинов.

Инсулин — белковый гормон, синтезирующийся в β-клетках поджелудочной железы и секретируемый в кровь в ответ на повышение концентрации глюкозы в крови. В структуре инсулина имеются две дисульфидные связи, соединяющие полипептидные А- и В-цепи, и одна дисульфидная связь внутри А-цепи (рис. 1.10).

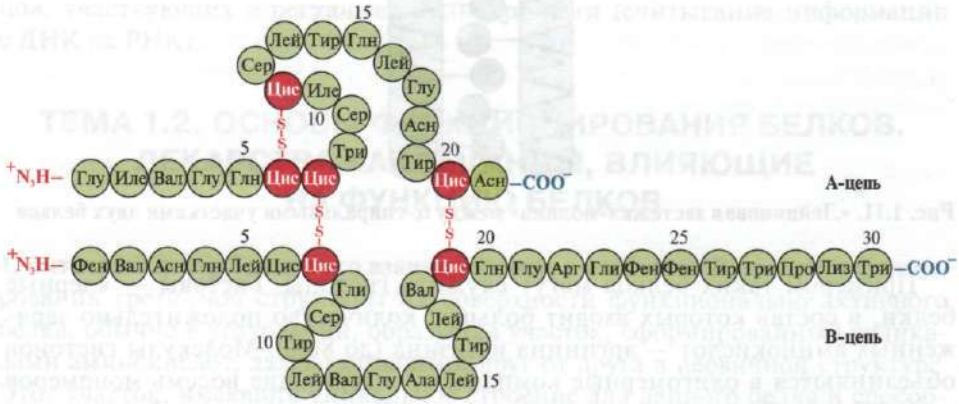


Рис. 1.10. Дисульфидные связи в структуре инсулина

5. Супервторичная структура белков. В разных по первичной структуре и функциям белках иногда выявляются **сходные сочетания и взаиморасположение вторичных структур**, которые называются супервторичной структурой. Она занимает промежуточное положение между вторичной и третичной структурами, поскольку это специфическое сочетание элементов вторичной структуры при формировании третичной структуры белка. Супервторичные структуры имеют специфические названия, такие как «α-спираль—поворот—α-спираль», «лейциновая застежка молния», «цинковые пальцы» и др. Такие супервторичные структуры характерны для ДНК-связывающих белков.

«Лейциновая застежка-молния». Этот вид супервторичной структуры используется для соединения двух белков. На поверхности взаимодействующих белков имеются α-спиральные участки, содержащие не менее четырех остатков лейцина. Лейциновые остатки в α-спирали располагаются через шесть аминокислот один от другого. Так как каждый виток α-спирали содержит 3,6 аминокислотных остатка, радикалы лейцина находятся на поверхности каждого второго витка. Лейциновые остатки α-спирали одного белка могут взаимодействовать с лейциновыми остатками другого белка (гидрофобные взаимодействия), соединяя их вместе (рис. 1.11.). Многие ДНК связывающие белки функционируют в составе олигомерных комплексов, где отдельные субъединицы связываются друг с другом «лейциновыми застежками».

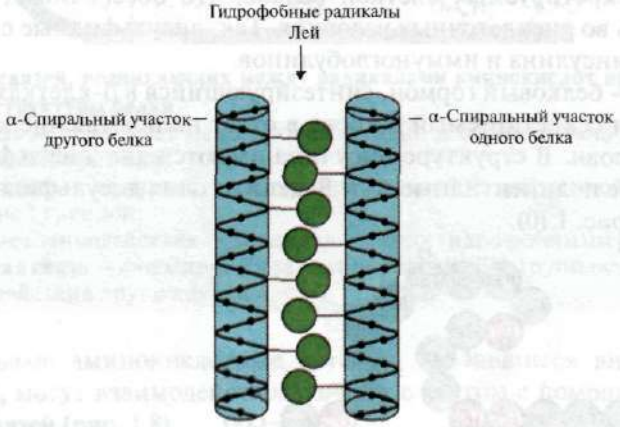


Рис. 1.11. «Лейциновая застежка-молния» между α-спиральными участками двух белков

Примером таких белков могут служить гистоны. **Гистоны** — ядерные белки, в состав которых входит большое количество положительно заряженных аминокислот — аргинина и лизина (до 80%). Молекулы гистонов объединяются в олигомерные комплексы, содержащие восемь мономеров с помощью «лейциновых застежек», несмотря на значительный одноименный заряд этих молекул.

«Цинковый палец» — вариант супервторичной структуры, характерный для ДНК-связывающих белков, имеет вид вытянутого фрагмента на поверхности белка и содержит около 20 аминокислотных остатков (рис. 1.12). Форму «вытянутого пальца» поддерживает атом цинка, связанный с радикалами четыре аминокислот — двух остатков цистеина и двух — гистидина. В некоторых случаях вместо остатков гистидина находятся остатки цистеина. Два близко лежащих остатка цистеина отделены от двух других остатков Гис- или Цис- последовательностью, состоящей примерно из 12 аминокислотных остатков. Этот участок белка образует α-спираль, радикалы которой могут специфично связываться с регуляторными участками большой бороздки ДНК. Специфичность связывания индивидуального

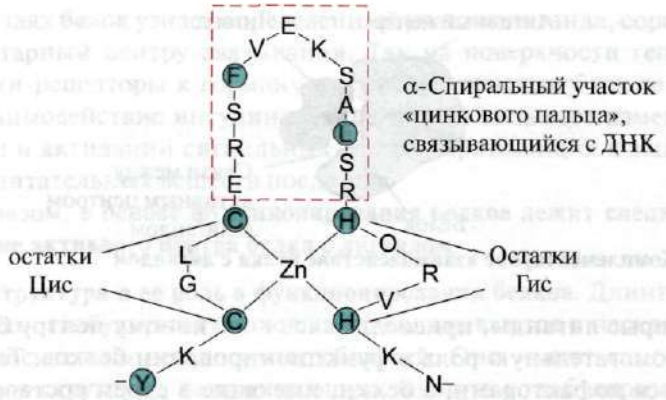


Рис. 1.12. Первичная структура участка ДНК-связывающих белков, формирующих структуру «цинкового пальца» (буквами обозначены аминокислоты, входящие в состав этой структуры)

регуляторного ДНК-связывающего белка зависит от последовательности аминокислотных остатков, расположенных в области «цинкового пальца». Такие структуры содержат, в частности, рецепторы стероидных гормонов, участвующих в регуляции транскрипции (считывание информации с ДНК на РНК).

ТЕМА 1.2. ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БЕЛКОВ. ЛЕКАРСТВА КАК ЛИГАНДЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ФУНКЦИЮ БЕЛКОВ

1. Активный центр белка и его взаимодействие с лигандом. В процессе формирования третичной структуры на поверхности функционально активного белка, обычно в углублении, образуется участок, сформированный радикалами аминокислот, далеко стоящими друг от друга в первичной структуре. Этот участок, имеющий уникальное строение для данного белка и способный специфично взаимодействовать с определенной молекулой или группой похожих молекул, называется центром связывания белка с лигандом или активным центром. Лигандами называются молекулы, взаимодействующие с белками.

Высокая специфичность взаимодействия белка с лигандом обеспечивается комплементарностью структуры активного центра структуре лиганда.

Комплементарность — это пространственное и химическое соответствие взаимодействующих поверхностей. Активный центр должен не только пространственно соответствовать входящему в него лиганду, но и между функциональными группами радикалов, входящих в активный центр, и лигандом должны образоваться связи (ионные, водородные, а также гидрофобные взаимодействия), которые удерживают лиганд в активном центре (рис. 1.13).

В этих случаях белок узнает определенный участок лиганда, соразмерный и комплементарный центру связывания. Так на поверхности гепатоцитов имеются белки-рецепторы к гормону инсулину, имеющему также белковое строение. Взаимодействие инсулина с рецептором вызывает изменение его конформации и активации сигнальных систем, приводящих к запасанию в гепатоцитах питательных веществ после еды.

Таким образом, **в основе функционирования белков лежит специфическое взаимодействие активного центра белка с лигандом.**

2. Доменная структура и ее роль в функционировании белков. Длинные полипептидные цепи глобулярных белков часто складываются в несколько компактных, относительно независимых областей. Они имеют самостоятельную третичную структуру, напоминающую таковую у глобулярных белков, и называются **доменами**. Благодаря доменной структуре белков легче формируется их третичная структура.

В доменных белках центры связывания с лигандом часто располагаются между доменами. Так, трипсин — протеолитический фермент, который вырабатывается экзокринной частью поджелудочной железы и необходим для переваривания белков пищи. Он имеет двухдоменное строение, а центр связывания трипсина с его лигандом — пищевым белком — располагается в бороздке между двумя доменами. В активном центре создаются условия, необходимые для эффективного связывания специфического участка пищевого белка и гидролиза его пептидных связей.

Разные домены в белке при взаимодействии активного центра с лигандом могут перемещаться друг относительно друга (рис. 1.15).

Гексокиназа — фермент, катализирующий фосфорилирование глюкозы с помощью АТФ. Активный центр фермента располагается в расщелине между двумя доменами. При связывании гексокиназы с глюкозой окружающие ее домены смыкаются и субстрат оказывается в «ловушке», где и происходит фосфорилирование (см. рис. 1.15).

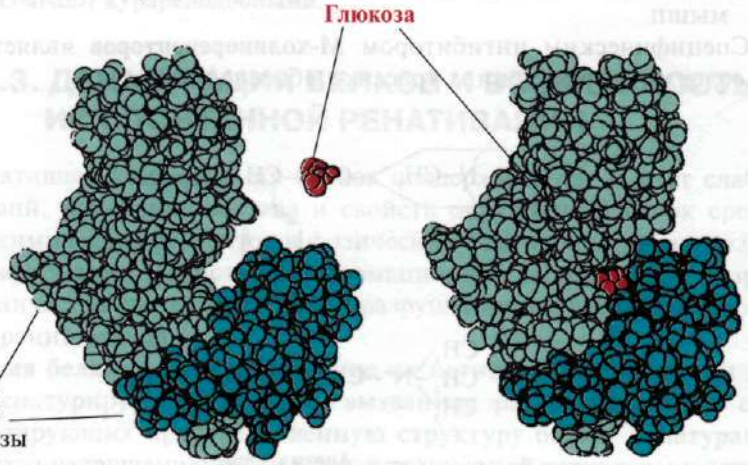


Рис. 1.15. Связывание доменов гексокиназы с глюкозой

В некоторых белках домены выполняют самостоятельные функции, связываясь с различными лигандами. Такие белки называются многофункциональными.

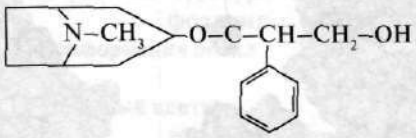
3. Лекарства — лиганды, влияющие на функцию белков. Взаимодействие белков с лигандами специфично. Однако благодаря конформационной лабильности белка и его активного центра можно подобрать другое вещество, которое также могло бы взаимодействовать с белком в активном центре или ином участке молекулы.

Вещество, по структуре похожее на природный лиганд, называют **структурным аналогом лиганда** или неприродным лигандом. Оно также взаимодействует с белком в активном центре. Структурный аналог лиганда может как усиливать функцию белка (**агонист**), так и снижать ее (**антагонист**). Лиганд и его структурные аналоги конкурируют друг с другом за связывание с белком в одном центре. Такие вещества называются **конкурентными модуляторами** (регуляторами) белковых функций. Многие лекарственные препараты действуют как ингибиторы белков. Некоторые из них получают химической модификацией природных лигандов. Ингибиторы белковых функций могут быть лекарствами и ядами.

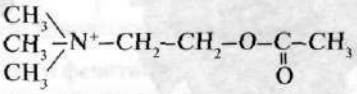
Атропин — конкурентный ингибитор М-холинорецепторов. Ацетилхолин — нейромедиатор передачи нервного импульса через холинэргические синапсы. Для проведения возбуждения выделившийся в синаптическую щель ацетилхолин должен взаимодействовать с белком — рецептором постсинаптической мембраны. Обнаружены два типа **холинорецепторов**:

- **М-рецептор**, кроме ацетилхолина избирательно взаимодействующий с мускарином (токсином мухомора). М — холинорецепторы имеются на гладких мышцах и при взаимодействии с ацетилхолином вызывают их сокращение;
- **Н-рецептор**, специфично связывающийся с никотином. Н-холинорецепторы обнаружены в синапсах поперечнополосатых скелетных мышц.

Специфическим ингибитором **М-холинорецепторов** является атропин. Он содержится в растениях красавке и белене.



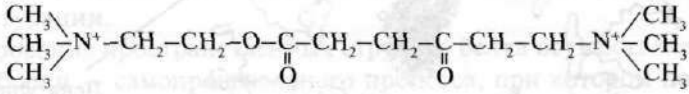
Атропин



Ацетилхолин

Атропин имеет в структуре схожие с ацетилхолином функциональные группы и их пространственное расположение, поэтому относится к конкурентным ингибиторам М-холинорецепторов. Учитывая, что связывание ацетилхолина с М-холинорецепторами вызывает сокращение гладких мышц, атропин используют как лекарство, снимающее их спазм (**спазмолитик**). Так, известно применение атропина для расслабления глазных мышц при просмотре глазного дна, а также для снятия спазмов при желудочно-кишечных коликах. М-холинорецепторы имеются и в центральной нервной системе (ЦНС), поэтому большие дозы атропина могут вызвать нежелательную реакцию со стороны ЦНС: двигательное и психическое возбуждение, галлюцинации, судороги.

Дитилин — конкурентный агонист Н-холинорецепторов, ингибирующий функцию нервно-мышечных синапсов.



Дитилин

Нервно-мышечные синапсы скелетных мышц содержат Н-холинорецепторы. Их взаимодействие с ацетилхолином приводит к мышечным сокращениям. При некоторых хирургических операциях, а также в эндоскопических исследованиях используют препараты, вызывающие расслабление скелетных мышц (**миорелаксанты**). К ним относится дитилин, являющийся структурным аналогом ацетилхолина. Он присоединяется к Н-холинорецепторам, но в отличие от ацетилхолина очень медленно разрушается ферментом — ацетилхолинэстеразой. В результате длительного открытия ионных каналов и стойкой деполяризации мембраны нарушается проведение нервного импульса и происходит мышечное расслабление. Первоначально эти свойства были обнаружены у яда кураре, поэтому такие препараты называют **курареподобными**.

ТЕМА 1.3. ДЕНАТУРАЦИЯ БЕЛКОВ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ СПОНТАННОЙ РЕНАТИВАЦИИ

1. Так как нативная конформация белков поддерживается за счет слабых взаимодействий, изменение состава и свойств окружающей белок среды, воздействие химических реагентов и физических факторов вызывают изменение их конформации (свойство конформационной лабильности). Разрыв большого количества связей приводит к разрушению нативной конформации и денатурации белков.

Денатурация белков — это разрушение их нативной конформации под действием денатурирующих агентов, вызванное разрывом слабых связей, стабилизирующих пространственную структуру белка. Денатурация сопровождается разрушением уникальной трехмерной структуры и активного центра белка и потерей его биологической активности (рис. 1.16).

Все денатурированные молекулы одного белка приобретают случайную *конформацию, отличающуюся от других молекул того же белка. Радикалы* аминокислот, формирующие активный центр, оказываются пространственно удаленными друг от друга, т.е. разрушается специфический центр связывания белка с лигандом. При денатурации первичная структура белков остается неизменной.

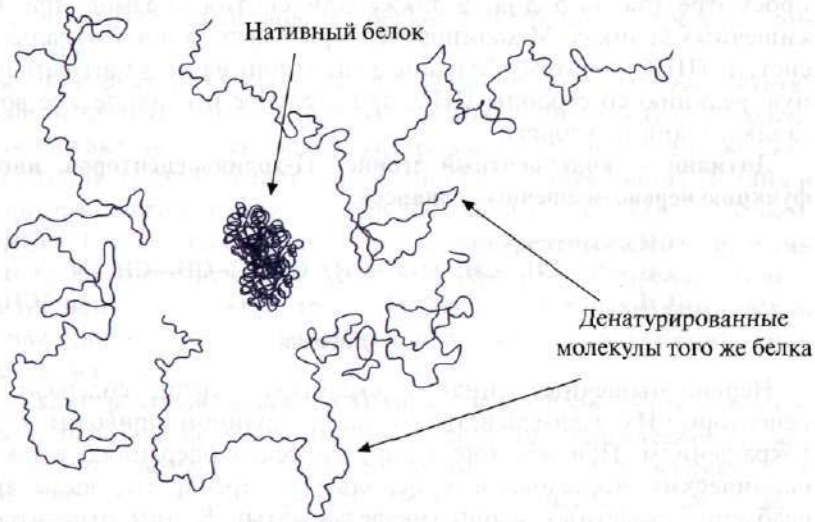


Рис. 1.16. Структура нативного белка и трех денатурированных молекул того же белка

Таблица 1.1. Реагенты и условия, вызывающие денатурацию белков

Денатурирующие агенты	Особенности действия реагента
Высокая температура (свыше 60°С)	Разрушение слабых связей в белке
Кислоты и щелочи	Изменение ионизации ионогенных групп, разрыв ионных и водородных связей
Мочевина	Разрушение внутремолекулярных водородных связей в результате образования водородных связей с мочевиной
Спирт, фенол, хлорамин	Разрушение гидрофобных, водородных связей
Соли тяжелых металлов	Образование нерастворимых солей белков с ионами тяжелых металлов

Применение денатурирующих агентов в биологических исследованиях и медицине. В биохимических исследованиях перед определением в биологическом материале низкомолекулярных соединений обычно из раствора вначале удаляют белки. Для этой цели чаще всего используют трихлоруксусную кислоту (ТХУ). После добавления ТХУ в раствор денатурированные белки выпадают в осадок и легко удаляются фильтрованием (табл. 1.1.)

В медицине денатурирующие агенты часто применяют для стерилизации медицинского инструмента и материала в автоклавах (денатурирующий агент — высокая температура) и в качестве антисептиков (спирт, фенол, хлорамин) для обработки загрязненных поверхностей, содержащих патогенную микрофлору.

2. Спонтанная ренативация белков — доказательство детерминированности первичной структуры, конформации и функции белков. Индивидуальные белки — это продукты одного гена, которые имеют идентичную аминокислотную последовательность и в клетке приобретают одинаковую конформацию. Фундаментальный вывод о том, что в первичной структуре белка уже заложена информация о его конформации и функции, был сделан на основе способности некоторых белков (в частности, рибонуклеазы и миоглобина) к спонтанной ренативации — восстановлению их нативной конформации после денатурации.

Формирование пространственных структур белка осуществляется способом самосборки — самопроизвольного процесса, при котором полипептидная цепь, имеющая уникальную первичную структуру, стремится принять в растворе конформацию с наименьшей свободной энергией. Способность к ренативации белков, сохраняющих после денатурации первичную структуру, описана в опыте с ферментом рибонуклеазой.

Рибонуклеаза — фермент, разрушающий связи между отдельными нуклеотидами в молекуле РНК. Этот глобулярный белок имеет одну полипептидную цепь, третичная структура которой стабилизирована множеством слабых и четырьмя дисульфидными связями.

Обработка рибонуклеазы мочевиной, разрушающей водородные связи в молекуле, и восстановителем, разрывающим дисульфидные связи, приводит к денатурации фермента и потере его активности.

Удаление денатурирующих агентов диализом приводит к восстановлению конформации и функции белка, т.е. к ренативации. (рис. 1.17).

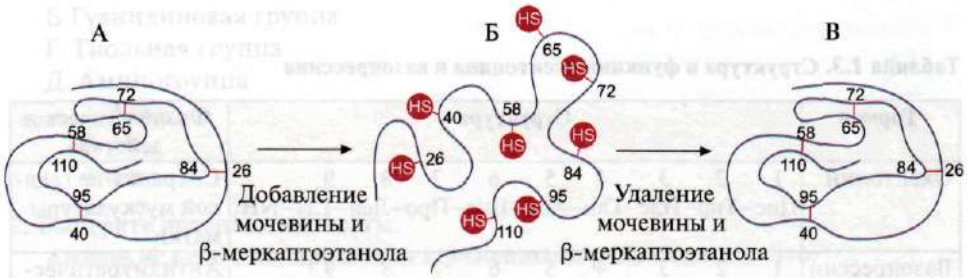


Рис. 1.17. Денатурация и ренативация рибонуклеазы

А — нативная конформация рибонуклеазы, в третичной структуре которой имеются четыре дисульфидные связи;

Б — денатурированная молекула рибонуклеазы;

В — ренативированная молекула рибонуклеазы с восстановленной структурой и функцией

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Заполните таблицу 1.2.

Таблица 1.2. Классификация аминокислот по полярности радикалов

Свойства радикалов	Полное и сокращенное название аминокислот	Строение аминокислот	Название функциональных групп радикалов
Гидрофобные			
Гидрофильные: незаряженные анионные катионные			

2. Напишите формулу тетрапептида:

Асп — Про — Фен — Лиз

а) выделите в пептиде повторяющиеся группы, образующие пептидный остов, и вариабельные группы, представленные радикалами аминокислот;

б) обозначьте N- и C-концы;

в) подчеркните пептидные связи;

г) напишите другой пептид, состоящий из тех же аминокислот;

д) подсчитайте количество возможных вариантов тетрапептида с аналогичным аминокислотным составом.

3. Объясните роль первичной структуры белков на примере сравнительного анализа двух сходных по структуре и эволюционно близких пептидных гормонов нейрогипофиза млекопитающих — окситоцина и вазопрессина (табл. 1.3).

Таблица 1.3. Структура и функции окситоцина и вазопрессина

Гормон	Структура	Физиологическое действие
Окситонин	1 2 3 4 5 6 7 8 9 Цис–Тир–Иле–Глн–Асн–Цис–Про–Лей–Глу–NH_2	Сокращение гладкой мускулатуры матки
Вазопрессин	1 2 3 4 5 6 7 8 9 Цис–Тир–Иле–Глн–Асн–Цис–Про–Лей–Глу–NH_2	Антидиуретическое и сосудосуживающее

Для этого:

а) сравните состав и последовательность аминокислот двух пептидов;
б) найдите сходство первичной структуры двух пептидов и сходство их биологического действия;
в) найдите различия в структуре двух пептидов и различие их функций;
г) сделайте вывод о влиянии первичной структуры пептидов на их функции.

4. Опишите основные этапы формирования конформации глобулярных белков (вторичная, третичная структуры, понятие о супервторичной структуре). Укажите типы связей, участвующих в формировании структур белка. Радикалы каких аминокислот могут участвовать в образовании гидрофобных взаимодействий, ионных, водородных связях.

Приведите примеры.

5. Дайте определение понятию «конформационная лабильность белков», укажите причины ее существования и значение.

6. Раскройте смысл следующей фразы: «В основе функционирования белков лежит их специфическое взаимодействие с лигандом», используя термины и объясняя их значение: конформация белка, активный центр, лиганд, комплементарность, функция белка.

7. На одном из примеров объясните, что такое домены и какова их роль в функционировании белков.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Установите соответствие.

Функциональная группа в радикале аминокислоты:

А. Карбоксильная группа
Б. Гидроксильная группа
В Гуанидиновая группа
Г. Тиольная группа
Д. Аминогруппа

1. Арг
2. Цис
3. Тир

2. Выберите правильные ответы.

Аминокислоты с полярными незаряженными радикалами — это:

А. Цис
Б. Асн
В. Глу
Г. Три
Д. Тре

3. Выберите правильные ответы.

Радикалы аминокислот:

А. Обеспечивают специфичность первичной структуры

Б. Участвуют в формировании третичной структуры

В. Располагаясь на поверхности белка, влияют на его растворимость

Г. Формируют активный центр

Д. Участвуют в образовании пептидных связей

4. Выберите правильные ответы.

Гидрофобные взаимодействия могут образовываться между радикалами аминокислот:

А. Тре Лей

Б. Про Три

В. Мет Иле

Г. Тир Ала

Д. Вал Фен

5. Выберите правильные ответы.

Ионные связи могут образовываться между радикалами аминокислот:

А. Глн Асп

Б. Арг Лиз

В. Лиз Глу

Г. Гис Асп

Д. Асн Арг

6. Выберите правильные ответы.

Водородные связи могут образовываться между радикалами аминокислот:

А. Сер Глн

Б. Цис Тре

В. Асп Лиз

Г. Глу Асп

Д. Асн Тре

7. Установите соответствие.

Тип связи, участвующий в формировании структуры белка:

А. Первичная структура

Б. Вторичная структура

В. Третичная структура

Г. Супервторичная структура

Д. Конформация.

1. Водородные связи между атомами пептидного остова
2. Слабые связи между функциональными группами радикалов аминокислот
3. Связи между α-амино и α-карбоксильными группами аминокислот

8. Выберите правильные ответы.

Трипсин:

А. Протеолитический фермент

Б. Содержит два домена

В. Гидролизирует крахмал

Г. Активный центр расположен между доменами.

Д. Состоит из двух полипептидных цепей.

9. Выберите правильные ответы.

Атропин:

А. Нейромедиатор

Б. Структурный аналог ацетилхолина

В. Взаимодействует с Н-холинорецепторами

Г. Усиливает проведение нервного импульса через холинэргические синапсы

Д. Конкурентный ингибитор М-холинорецепторов

10. Выберите правильные утверждения.

В белках:

А. Первичная структура содержит информацию о строении его активного центра

Б. Активный центр формируется на уровне первичной структуры

В. Конформация жестко фиксирована ковалентными связями

Г. Активный центр может взаимодействовать с группой похожих лигандов благодаря конформационной лабильности белков

Д. Изменение окружающей среды, может влиять на сродство активного центра к лиганду

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. 1—В, 2—Г, 3—Б.
2. А, Б, Д.
3. А, Б, В, Г.
4. Б, В, Д.
5. В, Г.
6. А, Б, Д.
7. 1—Б, 2—Д, 3—А.
8. А, Б, В, Г.
9. Б, Д.
10. А, Г, Д.

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Белок, полипептид, аминокислоты
2. Первичная, вторичная, третичная структуры белка
3. Конформация, нативная конформация белка
4. Ковалентные и слабые связи в белке
5. Конформационная лабильность
6. Активный центр белка
7. Лиганды
8. Фолдинг белков
9. Структурные аналоги лигандов
10. Доменные белки
11. Простые и сложные белки
12. Денатурация белка, денатурирующие агенты
13. Ренативация белков

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

«Структурная организация белков и основы их функционирования»

1. Основная функция белка — гемоглобина А (HвA) — транспорт кислорода к тканям. В популяции людей известны множественные формы этого белка с измененными свойствами и функцией — так называемые аномальные гемоглобины. Например, установлено, что гемоглобин S, обнаруженный в эритроцитах больных серповидно-клеточной анемией (HвS), имеет низкую растворимость в условиях низкого парциального давления кислорода (как это имеет место в венозной крови). Это приводит к образованию агрегатов данного белка. Белок утрачивает свою функцию, выпадает в осадок, а эритроциты приобретают неправильную форму (некоторые из них образуют форму серпа) и быстрее обычного разрушаются в селезенке. В результате развивается серповидноклеточная анемия.

Единственное различие в первичной структуре HвA и HвS обнаружено в N-концевом участке β-цепи гемоглобина. Сравните N-концевые участки β-цепи и покажите, как изменения в первичной структуре белка влияют на его свойства и функции.

1 2 3 4 5 6 7 8
HbA: Вал-Гис-Лей-Тре-Про-Глу-Глу-Лиз-
1 2 3 4 5 6 7 8
HbS: Вал-Гис-Лей-Тре-Про-Вал-Глу-Лиз-

Для этого:

а) напишите формулы аминокислот, по которым различаются HвA и HвS; сравните свойства этих аминокислот (полярность, заряд).

б) сделайте вывод о причине снижения растворимости HbS и нарушении транспорта кислорода в ткани.

2. На рисунке представлена схема строения белка, имеющего центр связывания с лигандом (активный центр). Объясните, почему белок обладает избирательностью в выборе лиганда. Для этого:

а) вспомните, что такое активный центр белка, и рассмотрите строение активного центра белка, представленного на рисунке;

б) напишите формулы радикалов аминокислот, входящих в состав активного центра;

в) нарисуйте лиганд, который мог бы специфически взаимодействовать с активным центром белка. Укажите на нем функциональные группы, способные образовать связи с радикалами аминокислот, входящих в состав активного центра;

г) укажите типы связей, возникающих между лигандом и радикалами аминокислот активного центра;

д) объясните, на чем основана специфичность взаимодействия белка с лигандом.

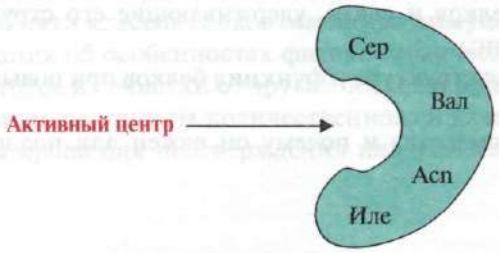
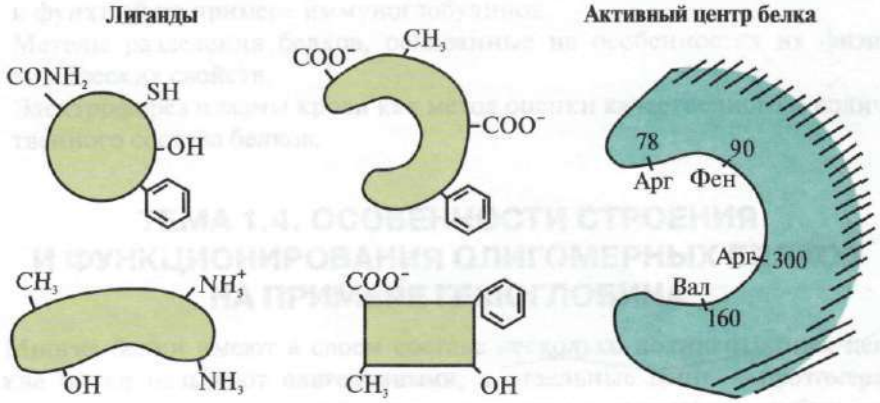


Схема строения белка

3. На рисунке представлен активный центр белка и несколько лигандов.

Определите, какой из лигандов с наибольшей вероятностью будет взаимодействовать с активным центром белка и почему.



Какие типы связей возникают в процессе образования комплекса «белок—лиганд»?

4. Структурные аналоги естественных лигандов белков могут использоваться в качестве лекарственных препаратов для изменения активности белков.

Ацетилхолин — медиатор передачи возбуждения в нервно-мышечных синапсах. При взаимодействии ацетилхолина с белками — рецепторами постсинаптической мембраны скелетных мышц происходит открытие ионных каналов и мышечное сокращение. Дитилин — лекарство, применяемое при некоторых операциях для расслабления мышц, так как он нарушает передачу нервного импульса через нервно-мышечные синапсы. Объясните механизм действия дитилина как миорелаксирующего препарата. Для этого:

а) напишите формулы ацетилхолина и дитилина и сравните их структуры;
б) опишите механизм расслабляющего действия дитилина.

5. При некоторых заболеваниях у больного повышается температура тела, что рассматривают как защитную реакцию организма. Однако высокие температуры губительны для белков организма. Объясните, почему при температуре выше 40 °С нарушается функция белков и возникает угроза для жизни человека. Для этого вспомните:

1) Строение белков и связи, удерживающие его структуру в нативной конформации;
2) Как меняется структура и функция белков при повышении температуры?;
3) Что такое гомеостаз и почему он важен для поддержания здоровья человека.

Модульная единица 2
ОЛИГОМЕРНЫЕ БЕЛКИ КАК МИШЕНИ РЕГУЛЯТОРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ МНОГООБРАЗИЕ БЕЛКОВ. МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БЕЛКОВ

Цели изучения

Уметь:

1. Использовать знания об особенностях структуры и функций олигомерных белков для понимания адаптивных механизмов регуляции их функций.
2. Объяснять роль шаперонов в синтезе и поддержании конформации белков в условиях клетки.
3. Объяснять многообразие проявления жизни многообразием структур и функций синтезирующихся в организме белков.
4. Анализировать связь структуры белков с их функцией на примерах сравнения родственных гемопротеинов — миоглобина и гемоглобина, а также представителей пяти классов белков семейства иммуноглобулинов.
5. Применять знания об особенностях физико-химических свойств белков для выбора методов их очистки от других белков и примесей.
6. Интерпретировать результаты количественного и качественного состава белков плазмы крови для подтверждения или уточнения клинического диагноза.

Знать:

1. Особенности строения олигомерных белков и адаптивные механизмы регуляции их функций на примере гемоглобина.
2. Строение и функции шаперонов и их значение для поддержания нативной конформации белков в условиях клетки.
3. Принципы объединения белков в семейства по схожести их конформации и функций на примере иммуноглобулинов.
4. Методы разделения белков, основанные на особенностях их физико-химических свойств.
5. Электрофорез плазмы крови как метод оценки качественного и количественного состава белков.

ТЕМА 1.4. ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ОЛИГОМЕРНЫХ БЕЛКОВ НА ПРИМЕРЕ ГЕМОГЛОБИНА

1. Многие белки имеют в своем составе несколько полипептидных цепей. Такие белки называют **олигомерными**, а отдельные цепи — **протомерами**. Протомеры в олигомерных белках соединены множеством слабых нековалентных связей (гидрофобных, ионных, водородных). Взаимодействие

протомеров осуществляется благодаря **комплементарности** их контактирующих поверхностей.

Количество протомеров в олигомерных белках может сильно варьировать: гемоглобин содержит 4 протомера, фермент аспартатаминотрансфераза — 12 протомеров, а в белок вируса табачной мозаики входит 2120 протомеров, соединенных нековалентными связями. Следовательно, олигомерные белки могут иметь очень большую молекулярную массу.

Взаимодействие одного протомера с другими можно рассматривать как частный случай взаимодействия белка с лигандом, так как каждый протомер служит лигандом для других протомеров. Количество и способ соединения *протомеров в белке называется* **четвертичной структурой белка**.

В состав белков могут входить одинаковые или разные по строению протомеры, например, гомодимеры — белки, содержащие два одинаковых протомера, а гетеродимеры — белки, содержащие два разных протомера.

Если в состав белков входят разные протомеры, то на них могут формироваться отличающиеся по структуре центры связывания с разными лигандами. При связывании лиганда с активным центром проявляется функция данного белка. Центр, расположенный на другом протомере, называется аллостерическим (другим, отличным от активного). Связываясь с **аллостерическим лигандом или эффектором**, *он выполняет регуляторную функцию* (рис. 1.18). Взаимодействие аллостерического центра с эффектором вызывает конформационные изменения в структуре всего олигомерного белка благодаря его конформационной лабильности. Это влияет на сродство активного центра к специфическому лиганду и регулирует функцию данного белка. Изменение конформации и функции всех протомеров при взаимодействии олигомерного белка хотя бы с одним лигандом носит название кооперативных изменений конформации. Эффекторы, усиливающие функцию белка, называются **активаторами**, а эффекторы, угнетающие его функцию, — **ингибиторами**.

Таким образом, у олигомерных белков, а также белков, имеющих доменное строение, *появляется новое по сравнению с мономерными белками свойство* — способность к аллостерической регуляции функций (регуляции присоединением к белку разных лигандов). Это можно проследить, сравнивая структуры и функции двух близко родственных сложных белков миоглобина и гемоглобина.

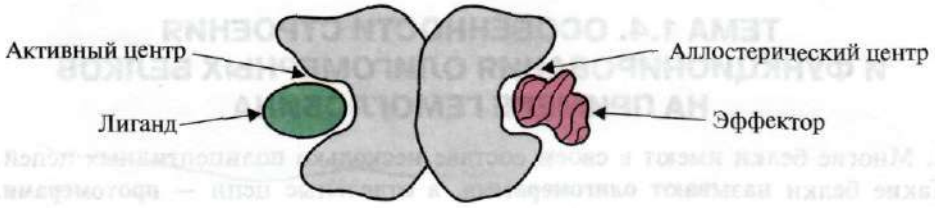


Рис. 1.18. Схема строения димерного белка

2. Формирование пространственных структур и функционирование миоглобина. Миоглобин (Мв) — белок, находящийся в красных мышцах, основная функция которого — создание запасов O_2, необходимых при интенсивной мышечной работе. Мв — сложный белок, содержащий белковую часть — апоМв и небелковую часть — гем. Первичная структура апоМв определяет его компактную глобулярную конформацию и структуру активного центра, к которому присоединяется небелковая часть миоглобина — гем. Кислород, поступающий из крови в мышцы, связывается с Fe^{+2} гема в составе миоглобина. Мв — мономерный белок, имеющий очень высокое сродство к O_2, поэтому отдача кислорода миоглобином происходит только при интенсивной мышечной работе, когда парциальное давление O_2 резко снижается.

Формирование конформации Мв. В красных мышцах на рибосомах в ходе трансляции идет синтез первичной структуры Мв, представленной специфической последовательностью 153 аминокислотных остатков. Вторичная структура Мв содержит восемь α-спиралей, называемых латинскими буквами от А до Н, между которыми имеются неспирализованные участки. Третичная структура Мв имеет вид компактной глобулы, в углублении которой между F и E α-спиралями расположен активный центр (рис. 1.19).

Рис. 1.19. Структура миоглобина

3. Особенности строения и функционирования активного центра Мв. Активный центр Мв сформирован преимущественно гидрофобными радикалами аминокислот, далеко отстоящими друг от друга в первичной структуре (например, $Три_{39}$ и $Фен_{138}$) К активному центру присоединяется плохо растворимые в воде лиганды — гем и O_2. Гем — специфический лиганд апоМв (рис. 1.20), основу которого составляют четыре пиррольных кольца, соединенных метенильными мостиками; в центре расположен атом Fe^{+2}, соединенный с атомами азота пиррольных колец четырьмя координационными связями. В активном центре Мв кроме гидрофобных радикалов аминокислот имеются также остатки двух аминокислот с гидрофильными радикалами — **Гис E_7** ($Гис_{64}$) и **Гис F_8** ($Гис_{93}$) (рис. 1.21).

Рис. 1.20. Строение гема — небелковой части миоглобина и гемоглобина

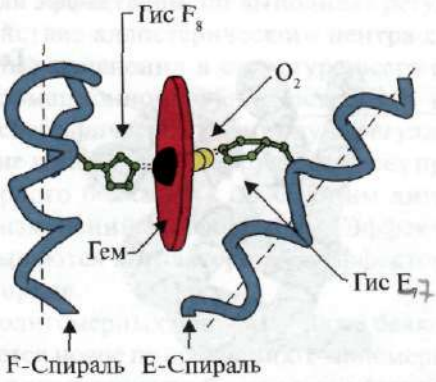


Рис. 1.21. Расположение гема и O_2 в активном центре апомиоглобина и протомеров гемоглобина

Гем через атом железа ковалентно связан с Гис F_8. O_2 присоединяется к железу с другой стороны плоскости гема. Гис E_7необходим для правильной ориентации O_2 и облегчает присоединение кислорода к Fe^{+2} гема

Гис F_8 образует координационную связь с Fe^{+2} и прочно фиксирует гем в активном центре. **Гис E_7** необходим для правильной ориентации в активном центре другого лиганда — O_2 при его взаимодействии с Fe^{+2} гема. Микроокружение гема создает условия для прочного, но обратимого связывания O_2 с Fe^{+2} и препятствует попаданию в гидрофобный активный центр воды, что может привести к его окислению в Fe^{+3}.

Мономерное строение Мв и его активного центра определяет высокое сродство белка к O_2.

4. Олигомерное строение Нв и регуляция сродства Нв к O_2 лигандами. Гемоглобины человека — семейство белков, так же как и миоглобин относящиеся к сложным белкам (гемопротеинам). Они имеют тетрамерное строение и содержат две α-цепи, но различаются по строению двух других полипептидных цепей (2α-, 2х-цепи). Строение второй полипептидной цепи определяет особенности функционирования этих форм Нв. Около 98% гемоглобина эритроцитов взрослого человека составляет **гемоглобин А** (2α-, 2β-цепи).

В период внутриутробного развития функционируют два основных типа гемоглобинов: **эмбриональный Нв** (2α, 2ε), который обнаруживается на ранних этапах развития плода, и **гемоглобин F (фетальный)** — (2α, 2γ), который приходит на смену раннему гемоглобину плода на шестом месяце внутриутробного развития и только после рождения замещается на Нв А.

Нв А — белок, родственный миоглобину (Мв), содержится в эритроцитах взрослого человека. Строение его отдельных протомеров аналогично таковому у миоглобина. Вторичная и третичная структуры миоглобина и протомеров гемоглобина очень сходны, несмотря на то что в первичной структуре их полипептидных цепей идентичны только 24 аминокислотных остатка (вторичная структура протомеров гемоглобина, так же как миоглобин, содержит восемь α-спиралей, обозначаемых латинскими буквами от А до Н, а третичная структура имеет вид компактной глобулы). Но в отличие от миоглобина гемоглобин имеет олигомерное строение, состоит из четырех полипептидных цепей, соединенных нековалентными связями (рис 1.22).

Каждый протомер Нв связан с небелковой частью — гемом и соседними протомерами. Соединение белковой части Нв с гемом аналогично таковому у миоглобина: в активном центре белка гидрофобные части гема окружены гидрофобными радикалами аминокислот за исключением Гис F_8 и Гис E_7, которые расположены по обе стороны от плоскости гема и играют аналогичную роль в функционировании белка и связывании его с кислородом (см. строение миоглобина).

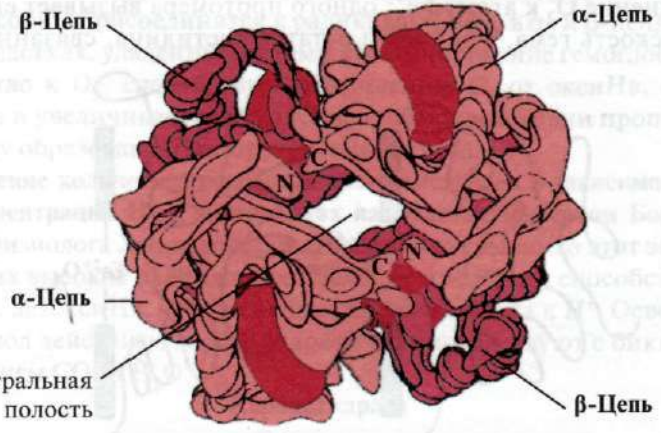


Рис. 1.22. Олигомерная структура гемоглобина

Кроме того, **Гис E_7** выполняет важную **дополнительную роль** в функционировании Нв. Свободный гем имеет в 25 000 раз более высокое сродство к CO, чем к O_2. CO в небольших количествах образуется в организме и, учитывая его высокое сродство к гему, он мог бы нарушать транспорт необходимого для жизни клеток O_2. Однако в составе гемоглобина сродство гема к оксиду углерода превышает сродство к O_2 всего в 200 раз благодаря наличию в активном центре Гис E_7. Остаток этой аминокислоты создает оптимальные условия для связывания гема с O_2 и ослабляет взаимодействие гема с CO.

5. *Основная функция Нв — транспорт O_2 из легких в ткани.* В отличие от мономерного миоглобина, имеющего очень высокое сродство к O_2 и выполняющего функцию запасания кислорода в красных мышцах, олигомерная структура гемоглобина обеспечивает:

1) быстрое насыщение Нв кислородом в легких;
2) способность Нв отдавать кислород в тканях при относительно высоком парциальном давлении O_2 (20—40 мм рт. ст.);
3) возможность регуляции сродства Нв к O_2.

6. Кооперативные изменения конформации протомеров гемоглобина ускоряют связывание O_2 в легких и отдачу его в ткани. В легких высокое парциальное давление O_2 способствует связыванию его с Нв в активном центре четырех протомеров (2α и 2β). Активный центр каждого протомера, так же как и в миоглобине, расположен между двумя α-спиралями (F и E) в гидрофобном кармане. Он содержит небелковую часть — гем, прикрепленный к белковой части множеством слабых гидрофобных взаимодействий и одной прочной связью между Fe^{2+} гема и Гис F_8 (см. рис. 1.21).

В дезоксигемоглобине, благодаря этой связи с Гис F_8, атом Fe^{2+} выступает из плоскости гема по направлению к гистидину. Связывание O_2 с Fe^{2+} происходит по другую сторону гема в области Гис E_7 с помощью единственной свободной координационной связи. Гис E_7 обеспечивает оптимальные условия для связывания O_2 с железом гема.

Присоединение O_2 к атому Fe^{+2} одного протомера вызывает его перемещение в плоскость гема, а за ним и остатка гистидина, связанного с ним (рис. 1.23).

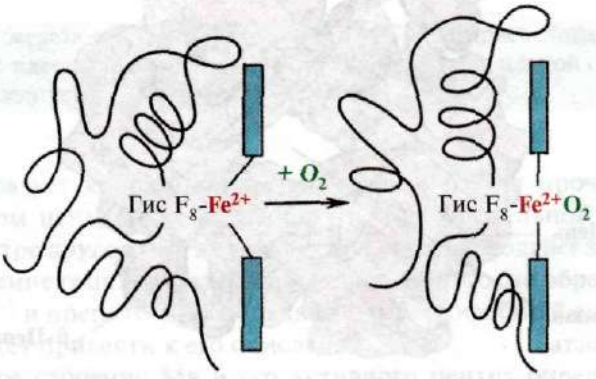


Рис. 1.23. Изменение конформации протомера гемоглобина при соединении с O_2

Это приводит к изменению конформации всех полипептидных цепей за счет их конформационной лабильности. Изменение конформации других цепей облегчает их взаимодействие со следующими молекулами O_2. Четвертая молекула O_2 присоединяется к гемоглобину в 300 раз легче, чем первая (рис. 1.24).

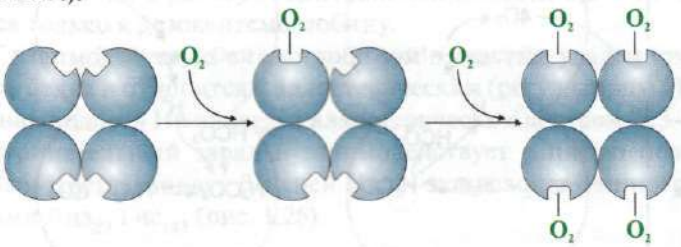


Рис. 1.24. Кооперативные изменения конформации протомеров гемоглобина при его взаимодействии с O_2

В тканях каждая следующая молекула O_2 отщепляется легче, чем предыдущая, также за счет кооперативных изменений конформации протомеров.

7. CO_2 и H^+, образующиеся при катаболизме органических веществ, уменьшают сродство гемоглобина к O_2 пропорционально их концентрации. Энергия, необходимая для работы клеток, вырабатывается преимущественно в митохондриях при окислении органических веществ с использованием O_2, доставляемого из легких гемоглобином. В результате окисления органических веществ образуются конечные продукты их распада: CO_2 и H_2O, количество которых *пропорционально интенсивности протекающих процессов окисления*.

CO_2 диффузией попадает из клеток в кровь и проникает в эритроциты, где под действием фермента карбангидразы превращается в угольную кислоту. Эта слабая кислота диссоциирует на протон и бикарбонат ион.

$$CO_2 + H_2O \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow H^+ + HCO_3^-.$$

H^+ способны присоединятся к радикалам $Гис_{146}$ в α- и β-цепях гемоглобина, т.е. в участках, удаленных от гема. Протонирование гемоглобина снижает его сродство к O_2, способствует отщеплению O_2 от оксиНв, образованию дезоксиНв и увеличивает поступление кислорода в ткани пропорционально количеству образовавшихся протонов (рис. 1.25).

Увеличение количества освобожденного кислорода в зависимости от увеличения концентрации H^+ в эритроцитах называется эффектом Бора (по имени датского физиолога Христиана Бора, впервые открывшего этот эффект).

В легких высокое парциальное давление кислорода способствует его связыванию с дезоксиНв, что уменьшает сродство белка к H^+. Освободившиеся протоны под действием карбангидразы взаимодействуют с бикарбонатами с образованием CO_2 и H_2O

Карбангидраза

$$H^+ + HCO_3 \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow CO_2 + H_2O\,.$$

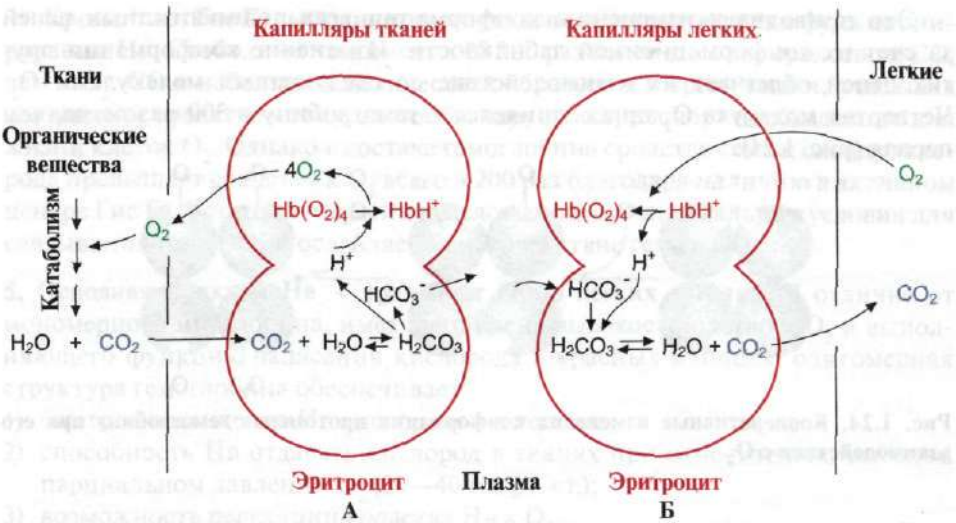
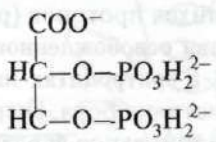


Рис. 1.25. Зависимость сродства Нв к O_2 от концентрации CO_2 и протонов (эффект Бора):

А – влияние концентрации CO_2 и H^+ на высвобождение O_2 из комплекса с Нв (эффект Бора); **Б** – оксигенирование дезоксигемоглобина в легких, образование и выделение CO_2.

Образовавшийся CO_2 поступает в альвеолярное пространство и удаляется с выдыхаемым воздухом. Таким образом, количество высвобождаемого гемоглобином кислорода в тканях регулируется продуктами катаболизма органических веществ: чем интенсивнее распад веществ, например при физических нагрузках, тем выше концентрация CO_2 и H^+ и тем больше кислорода получают ткани в результате уменьшения сродства Нв к O_2.

8. *Аллостерическая регуляция сродства Нв к O_2 лигандом — 2,3-бисфосфоглицератом.* В эритроцитах из продукта окисления глюкозы — 1,3-бисфосфоглицерата синтезируется аллостерический лиганд гемоглобина — 2,3-бисфосфоглицерат (2,3-БФГ). В нормальных условиях концентрация 2,3-БФГ высокая и сравнима с концентрацией Нв. 2,3-БФГ имеет сильный отрицательный заряд -5.



Бисфосфоглицерат в капиллярах тканей, связываясь с дезоксигемоглобином, увеличивает выход кислорода в ткани, уменьшая сродство Нв к O_2.

В центре тетрамерной молекулы гемоглобина находится полость. Ее образуют аминокислотные остатки всех четырех протомеров (см. рис. 1.22). В капиллярах тканей протонирование Нв (эффект Бора) приводит к разрыву связи между железом гема и O_2. В молекуле

дезоксигемоглобина по сравнению с оксигемоглобином возникают дополнительные ионные связи, соединяющие протомеры, вследствие чего размеры центральной полости по сравнению с оксигемоглобином увеличиваются. Центральная полость является местом присоединения 2,3-БФГ к гемоглобину. Из-за различия в размерах центральной полости 2,3-БФГ может присоединяться только к дезоксигемоглобину.

2,3-БФГ взаимодействует с гемоглобином в участке, удаленном от активных центров белка и относится к **аллостерическим** (регуляторным) лигандам, а центральная полость Нв является **аллостерическим центром**. 2,3-БФГ имеет сильный отрицательный заряд и взаимодействует с пятью положительно заряженными группами двух β-цепей Нв: N-концевой α-аминогруппой Вал и радикалами Лиз$_{82}$ Гис$_{143}$ (рис. 1.26).

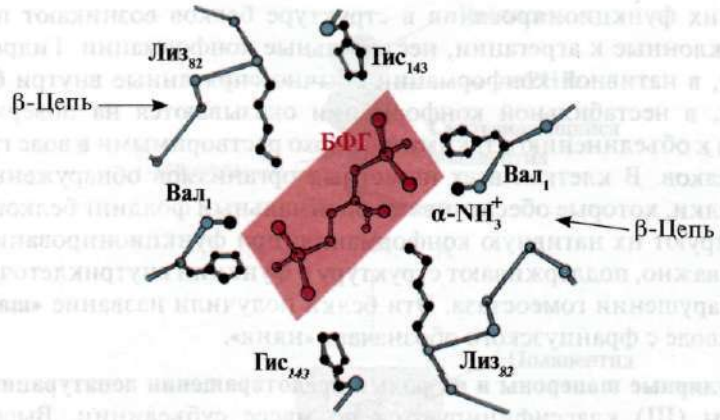


Рис. 1.26. БФГ в центральной полости дезоксигемоглобина

БФГ связывается с тремя положительно заряженными группами в каждой β-цепи.

В капиллярах тканей образующийся дезоксигемоглобин взаимодействует с 2,3-БФГ и между положительно заряженными радикалами β-цепей и отрицательно заряженным лигандом образуются ионные связи, которые изменяют конформацию белка и снижают сродство Нв к O_2. Уменьшение сродства Нв к O_2 способствует более эффективному выходу O_2 в ткани.

В легких при высоком парциальном давлении кислород взаимодействует с Нв, присоединяясь к железу гема; при этом изменяется конформация белка, уменьшается центральная полость и происходит вытеснение 2,3-БФГ из аллостерического центра

$$\text{НвO}_2 + \text{2,3-БФГ} \xleftrightarrow[\text{Ткани}]{\text{Легкие}} \text{Нв 2,3-БФГ} + \text{O}_2 .$$

Таким образом, олигомерные белки обладают новыми по сравнению с мономерными белками свойствами. Присоединение лигандов на участках,

пространственно удаленных друг от друга (аллостерических), способно вызывать конформационные изменения во всей белковой молекуле. Благодаря взаимодействию с регуляторными лигандами происходит изменение конформации и адаптация функции белковой молекулы к изменениям окружающей среды.

ТЕМА 1.5. ПОДДЕРЖАНИЕ НАТИВНОЙ КОНФОРМАЦИИ БЕЛКОВ В УСЛОВИЯХ КЛЕТКИ

В клетках в процессе синтеза полипептидных цепей, их транспорта через мембраны в соответствующие отделы клетки, в процессе фолдинга (формирования нативной конформации) и при сборке олигомерных белков, а также в период их функционирования в структуре белков возникают промежуточные, склонные к агрегации, нестабильные конформации. Гидрофобные радикалы, в нативной конформации обычно спрятанные внутри белковой молекулы, в нестабильной конформации оказываются на поверхности и стремятся к объединению с такими же плохо растворимыми в воде группами других белков. В клетках всех известных организмов обнаружены специальные белки, которые обеспечивают оптимальный фолдинг белков клетки, стабилизируют их нативную конформацию при функционировании и, что особенно важно, поддерживают структуру и функции внутриклеточных белков при нарушении гомеостаза. Эти белки получили название **«шапероны»**, что в переводе с французского обозначает «няня».

1. Молекулярные шапероны и их роль в предотвращении денатурации белков. Шапероны (Ш) классифицируются по массе субъединиц. Высокомолекулярные шапероны имеют массу от 60 до 110 кД. Среди них наиболее изучены три класса: Ш-60, Ш-70 и Ш-90. Каждый класс включает семейство родственных белков. Так, в состав Ш-70 входят белки с молекулярной массой от 66 до 78 кД. Низкомолекулярные шапероны имеют молекулярную массу от 40 до 15 кД.

Среди шаперонов различают **конститутивные** белки, высокий базальный синтез которых не зависит от стрессовых воздействий на клетки организма, и **индуцибельные**, синтез которых в нормальных условиях идет слабо, но резко возрастает при стрессовых воздействиях. Индуцибельные шапероны называют также «белками теплового шока», так как впервые они были обнаружены в клетках, подвергавшихся воздействию высоких температур. В клетках из-за высокой концентрации белков самопроизвольная ренативация частично денатурированных белков затруднена. Ш-70 могут предотвращать начавшийся процесс денатурации и способствовать восстановлению нативной конформации белков. **Молекулярные шапероны-70** — высококонсервативный класс белков, находящихся во всех отделах клетки: цитоплазме, ядре, эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях. На карбоксильном конце единственной полипептидной цепи Ш-70 имеется участок, который представляет собой бороздку, способный взаимодействовать с пептидами длиной

от 7 до 9 аминокислотных остатков, обогащенных гидрофобными радикалами. Такие участки в глобулярных белках встречаются примерно через каждые 16 аминокислот. Ш-70 способны защищать белки от температурной инактивации и восстанавливать конформацию и активность частично денатурированных белков.

2. Роль шаперонов в фолдинге белков. При синтезе белков на рибосоме N-концевая область полипептида синтезируется раньше С-концевой. Для формирования нативной конформации необходима полная аминокислотная последовательность белка. В процессе синтеза белков шапероны-70, благодаря строению их активного центра, способны закрывать склонные к агрегации участки полипептида, обогащенные гидрофобными радикалами аминокислот до завершения синтеза (рис 1.27, А).

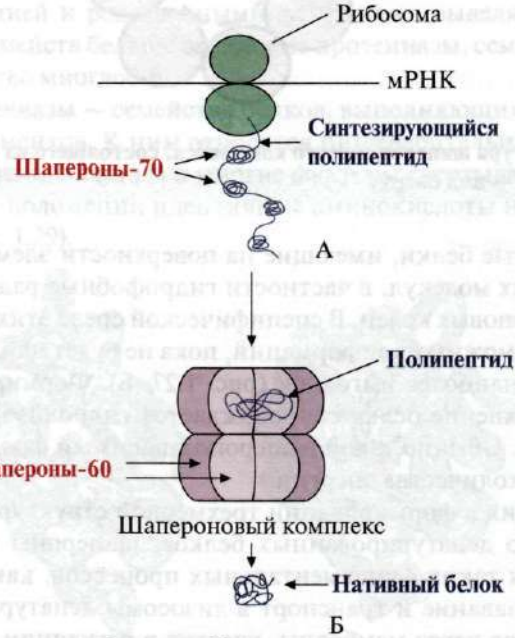


Рис. 1.27. Участие шаперонов в фолдинге белков

А — участие шаперонов-70 в предотвращении гидрофобных взаимодействий между участками синтезирующегося полипептида; Б — формирование нативной конформации белка в шапероновом комплексе

Многие высокомолекулярные белки, имеющие сложную конформацию, например доменное строение, осуществляют фолдинг в специальном пространстве, сформированном Ш-60. **Ш-60** функционируют в виде олигомерного комплекса, состоящего из 14 субъединиц. Они формируют два полых кольца, каждое из которых состоит из семи субъединиц, эти кольца соединены друг с другом. Каждая субъединица Ш-60 состоит из трех доменов: апикального (верхушечного), обогащенного гидрофобными радикалами, обращенными в полость кольца, промежуточного и экваториального (рис. 1.28).

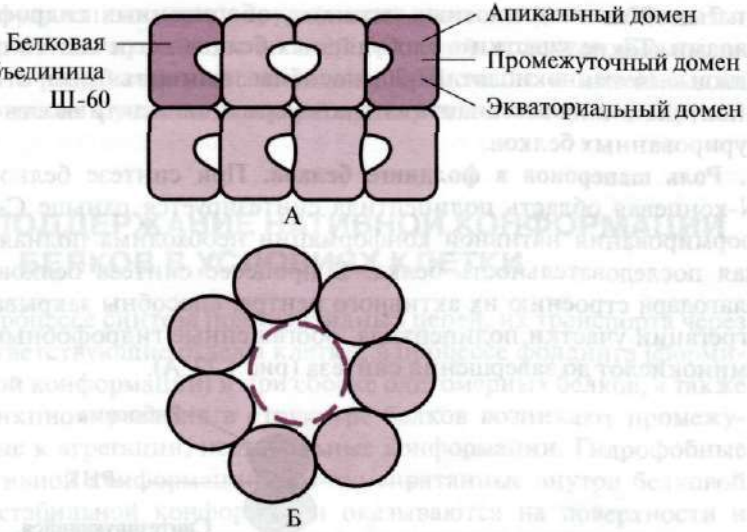


Рис. 1.28 . Структура шаперонинового комплекса, состоящего из 14 Ш-60
А — вид сбоку; Б — вид сверху

Синтезированные белки, имеющие на поверхности элементы, характерные для несвернутых молекул, в частности гидрофобные радикалы, попадают в полость шапероновых колец. В специфической среде этих полостей происходит перебор возможных конформаций, пока не будет найдена единственная, энергетически наиболее выгодная (рис. 1.27, Б). Формирование конформаций и высвобождение белка сопровождается гидролизом АТФ в экваториальной области. Обычно такой шаперонозависимый фолдинг требует затрат значительного количества энергии.

Кроме участия в формировании трехмерной структуры белков и ренативации частично денатурированных белков, шапероны также необходимы для протекания таких фундаментальных процессов, как сборка олигомерных белков, узнавание и транспорт в лизосомы денатурированных белков, транспорт белков через мембраны, участие в регуляции активности белковых комплексов.

ТЕМА 1.6. МНОГООБРАЗИЕ БЕЛКОВ. СЕМЕЙСТВА БЕЛКОВ НА ПРИМЕРЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

1. Белки играют решающую роль в жизнедеятельности отдельных клеток и всего многоклеточного организма, а их функции удивительно многообразны. Это определяется особенностями первичной структуры и конформаций белков, уникальностью строения активного центра и способностью связывать специфические лиганды.

Лишь очень небольшая часть всех возможных вариантов пептидных цепей может принять стабильную пространственную структуру; большинство

из них может принимать множество конформаций с примерно одинаковой энергией Гиббса, но с различными свойствами. Первичная структура большинства известных белков, отобранных биологической эволюцией, обеспечивает исключительную стабильность одной из конформаций, которая определяет особенности функционирования этого белка.

2. Семейства белков. В пределах одного биологического вида замены аминокислотных остатков могут приводить к возникновению разных белков, выполняющих родственные функции и имеющих гомологичные последовательности аминокислот. Такие родственные белки имеют поразительно сходные конформации: количество и взаиморасположение α-спиралей и (или) β-структур, большинство поворотов и изгибов полипептидных цепей похожи или идентичны. Белки с гомологичными участками полипептидной цепи, сходной конформацией и родственными функциями выделяют в семейства белков. Примеры семейств белков: сериновые протеиназы, семейство иммуноглобулинов, семейство миоглобина.

Сериновые протеиназы — семейство белков, выполняющих функцию протеолитических ферментов. К ним относятся пищеварительные ферменты — химотрипсин, трипсин, эластаза и многие факторы свертывания крови. Эти белки имеют в 40% положений идентичные аминокислоты и очень близкую конформацию (рис. 1.29).

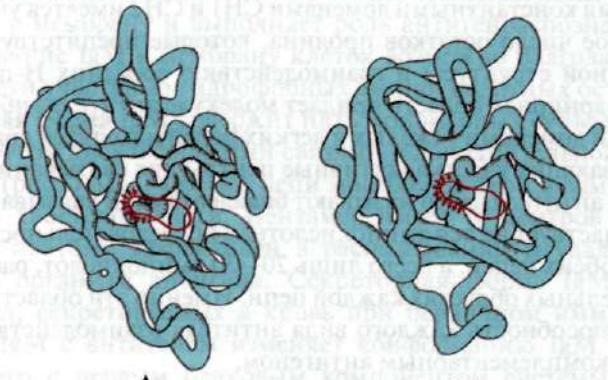


Рис. 1.29 . Пространственные структуры эластазы (А) и химотрипсина (Б)

Некоторые аминокислотные замены привели к изменению субстратной специфичности этих белков и возникновению функционального многообразия внутри семейства.

3. Семейство иммуноглобулинов. В работе иммунной системы огромную роль играют белки суперсемейства иммуноглобулинов, которое включает в себя три семейства белков:

- антитела (иммуноглобулины);
- рецепторы Т-лимфоцитов;
- белки главного комплекса гистосовместимости — МНС 1-го и 2-го классов (Major Histocompatibility Complex).

Все эти белки имеют доменное строение, состоят из гомологичных иммуноподобных доменов и выполняют сходные функции: взаимодействуют с чужеродными структурами, либо растворенными в крови, лимфе или межклеточной жидкости (антитела), либо находящимися на поверхности клеток (собственных или чужеродных).

4. Антитела — специфические белки, вырабатываемые В-лимфоцитами в ответ на попадание в организм чужеродной структуры, называемой **антигеном**.

Особенности строения антител

Простейшие молекулы антител состоят из четырех полипептидных цепей: двух идентичных легких — L, содержащих около 220 аминокислот, и двух идентичных тяжелых — H, состоящих из 440—700 аминокислот. Все четыре цепи в молекуле антитела соединены множеством нековалентных связей и четырьмя дисульфидными связями (рис. 1.30).

Легкие цепи антитела состоят из двух доменов: вариабельного (VL), находящегося в N-концевой области полипептидной цепи, и константного (CL), расположенного на С-конце. Тяжелые цепи обычно имеют четыре домена: один вариабельный (VH), находящийся на N-конце, и три константных (CH1, CH2, CH3) (см. рис. 1.30). Каждый домен иммуноглобулина имеет β-складчатую суперструктуру, в которой два остатка цистеина соединены дисульфидной связью.

Между двумя константными доменами CH1 и CH2 имеется участок, содержащий большое число остатков пролина, которые препятствуют формированию вторичной структуры и взаимодействию соседних H-цепей на этом отрезке. Эта шарнирная область придает молекуле антитела гибкость. Между вариабельными доменами тяжелых и легких цепей находятся два идентичных антигенсвязывающих участка (активные центры для связывания антигенов), поэтому такие антитела часто называют **бивалентами**. В связывании антигена с антителом участвует не вся аминокислотная последовательность вариабельных участков обеих цепей, а всего лишь 20—30 аминокислот, расположенных в гипервариабельных областях каждой цепи. Именно эти области определяют уникальную способность каждого вида антитела взаимодействовать с соответствующим комплементарным антигеном.

Антитела — одна из линий защиты организма против внедрившихся чужеродных организмов. Их функционирование можно разделить на два этапа: первый этап — узнавание и связывание антигена на поверхности чужеродных организмов, что возможно благодаря наличию в структуре антитела антигенсвязывающих участков; второй этап — инициация процесса инактивации и разрушения антигена. Специфичность второго этапа зависит от класса антител. Существует пять классов тяжелых цепей, отличающихся друг от друга по строению константных доменов: α, δ, ε, γ и μ, в соответствии с которыми различают пять классов иммуноглобулинов: A, D, E, G и M.

Особенности строения тяжелых цепей придают шарнирным участкам и С-концевым областям тяжелых цепей характерную для каждого класса конформацию. После связывания антигена с антителом конформационные изменения константных доменов определяют путь удаления антигена.

Рис. 1. 30. Доменное строение IgG

Иммуноглобулины М

Иммуноглобулины М имеют две формы.

Мономерная форма — 1-й класс антител, продуцируемый развивающимся В-лимфоцитом. Впоследствии многие В-клетки переключаются на выработку других классов антител, но с тем же антигенсвязывающим участком. IgM встраивается в мембрану и выполняет роль антигенраспознающего рецептора. Встраивание IgM в мембрану клеток возможно благодаря наличию в хвостовой части участка 25 гидрофобных аминокислотных остатков.

Секреторная форма IgM содержит пять мономерных субъединиц, связанных друг с другом дисульфидными связями и дополнительной полипептидной J-цепью (рис. 1.31). Тяжелые цепи мономеров этой формы не содержат гидрофобной хвостовой части. Пентамер имеет 10 центров связывания с антигеном и поэтому эффективен в распознавании и удалении впервые попавшего в организм антигена. Секреторная форма IgM — основной класс антител, секретируемых в кровь при первичном иммунном ответе. Связывание IgM с антигеном изменяет конформацию IgM и индуцирует связывание его с первым белковым компонентом системы комплемента (система комплемента — набор белков, участвующих в уничтожении антигена) и активацию этой системы. Если антиген расположен на поверхности микроорганизма, система комплемента вызывает нарушение целостности клеточной мембраны и гибель бактериальной клетки.

Иммуноглобулины G

В количественном отношении этот класс иммуноглобулинов преобладает в крови (75% от всех Ig). IgG — мономеры, основной класс антител, секретируемый в кровь при вторичном иммунном ответе. После взаимодействия IgG с поверхностными антигенами микроорганизмов комплекс антиген–антитело способен связывать и активировать белки системы комплемента или может взаимодействовать со специфическими рецепторами макрофагов и нейтрофилов. Взаимодействие с фагоцитами приводит

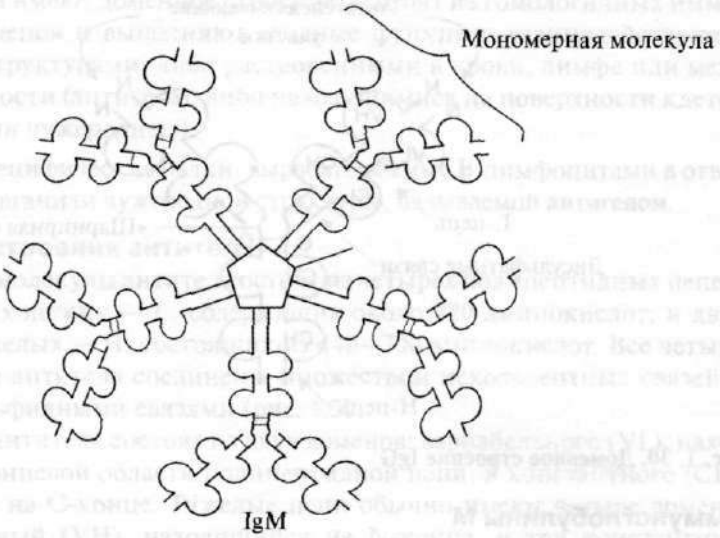


Рис. 1.31. Строение секреторной формы IgM

к поглощению комплексов антиген—антитело и разрушению их в фагосомах клеток. IgG — единственный класс антител, которые способны проникать через плацентарный барьер и обеспечивать внутриутробную защиту плода от инфекций.

Иммуноглобулины А

Основной класс антител, присутствующий в секретах (молоке, слюне, секретах дыхательных путей и кишечного тракта). IgA секретируются в основном в димерной форме, где мономеры связаны друг с другом через дополнительную J-цепь (рис. 1.32).

IgA не взаимодействуют с системой комплемента и фагоцитирующими клетками, но, связываясь с микроорганизмами, антитела препятствуют их присоединению к эпителиальным клеткам и проникновению в организм.

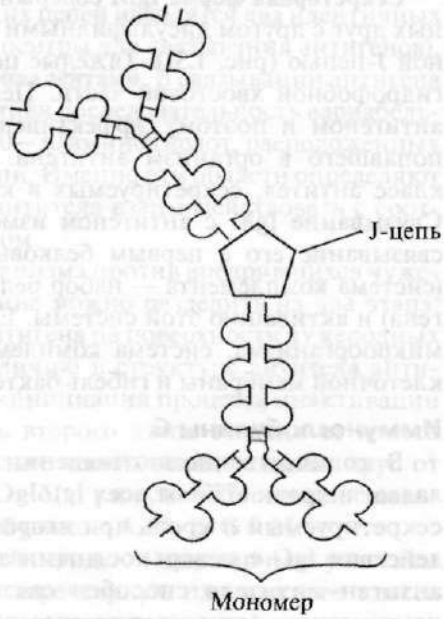


Рис. 1.32. Строение IgA

Иммуноглобулины Е

Иммуноглобулины Е представлены мономерами, в которых тяжелые ε-цепи содержат, так же как и μ-цепи иммуноглобулинов М, один вариабельный и четыре константных домена. IgE после секреции связываются своими

С-концевыми участками с соответствующими рецепторами на поверхности тучных клеток и базофилов. В результате они становятся рецепторами для антигенов на поверхности данных клеток (рис. 1.33).

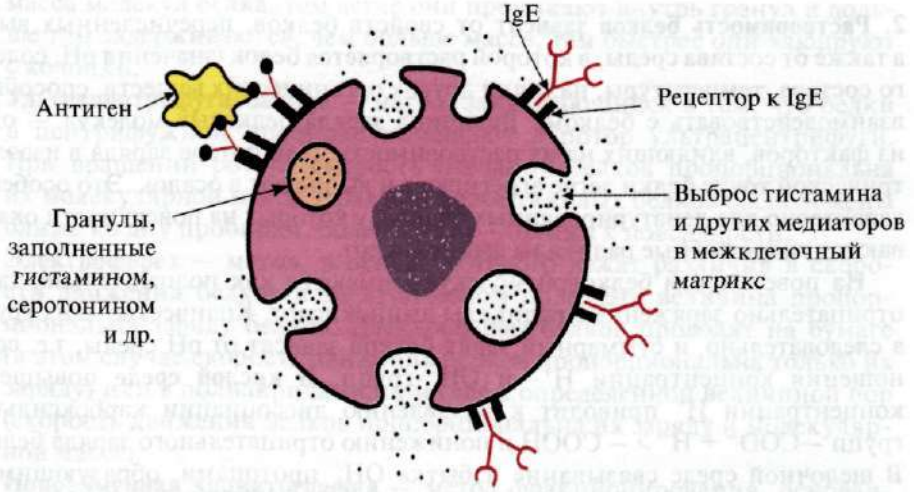


Рис. 1.33. Взаимодействие IgE с антигеном на поверхности тучной клетки

После того как происходит присоединение антигена к соответствующим антигенсвязывающим участкам IgE, клетки получают сигнал к секреции биологически активных веществ (гистамина, серотонина), которые в большой мере ответственны за развитие воспалительной реакции и за проявление таких аллергических реакций, как астма, крапивница, сенная лихорадка.

Иммуноглобулины D

Иммуноглобулины D обнаружены в сыворотке в очень небольшом количестве, они являются мономерами. В тяжелых δ-цепях имеются один вариабельный и три константных домена. IgD выполняют роль рецепторов В-лимфоцитов, другие функции пока неизвестны. Взаимодействие специфических антигенов с рецепторами на поверхности В-лимфоцитов (IgD) приводит к передаче этих сигналов в клетку и включению механизмов, обеспечивающих размножение данного клона лимфоцитов.

ТЕМА 1.7. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ И МЕТОДЫ ИХ РАЗДЕЛЕНИЯ

1. Индивидуальные белки различаются по физико-химическим свойствам:
   - форме молекул;
   - молекулярной массе;
   - суммарному заряду, величина которого зависит от соотношения анионных и катионных групп аминокислот;

- соотношению полярных и неполярных радикалов аминокислот на поверхности молекул;
- *степени устойчивости к воздействию различных денатурирующих* агентов.

2. Растворимость белков зависит *от свойств белков, перечисленных выше,* а также от состава среды, в которой растворяется белок (значения pH, солевого состава, температуры, наличия других органических веществ, способных взаимодействовать с белком). Величина заряда белковых молекул — один из факторов, влияющих на их растворимость. При потере заряда в изоэлектрической точке белки легче агрегируют и выпадают в осадок. Это особенно характерно для денатурированных белков, у которых на поверхности оказываются гидрофобные радикалы аминокислот.

На поверхности белковой молекулы имеются как положительно, так и отрицательно заряженные радикалы аминокислот. Количество этих групп, а следовательно, и суммарный заряд белков зависят от pH среды, т.е. соотношения концентрации H^+- и OH^--групп. **В кислой среде** повышение концентрации H^+ приводит к подавлению диссоциации карбоксильных групп $—COO^- + H^+ > – COOH$ и понижению отрицательного заряда белков. В щелочной среде связывание избытка OH^- протонами, образующимися при диссоциации аминогрупп $—NH_3^+ + OH^- \rightarrow NH_2 + H_2O$ с образованием воды, приводит к уменьшению положительного заряда белков. Значение pH, при котором белок имеет суммарный нулевой заряд, называется **изоэлектрической точкой (ИЭТ)**. В ИЭТ число положительно и отрицательно заряженных групп одинаково, т.е. белок находится в изоэлектрическом состоянии.

3. Разделение индивидуальных белков. Особенности строения и функционирования организма зависят от набора белков, синтезирующихся в нем. Изучение строения и свойств белков невозможно без их выделения из клетки и очистки от других белков и органических молекул. Стадии выделения и очистки индивидуальных белков:

- **Разрушение клеток** изучаемой ткани и получение гомогената.
- **Разделение гомогената на фракции** центрифугированием, получение ядерной, митохондриальной, цитозольной или иной фракции, содержащей искомый белок.
- **Избирательная тепловая денатурация** — кратковременное нагревание раствора белков, при котором можно удалить часть денатурированных белковых примесей (в том случае, если белок относительно термостабилен).
- **Высаливание.** Различные белки выпадают в осадок при разных концентрациях соли в растворе. Постепенно повышая концентрацию соли, можно получить ряд отдельных фракций с преимущественным содержанием выделяемого белка в одной из них. Наиболее часто для фракционирования белков используют сульфат аммония. Белки с наименьшей растворимостью выпадают в осадок при небольших концентрациях солей.

- **Гель-фильтрация** — метод просеивания молекул через набухшие гранулы сефадекса (трехмерные полисахаридные цепи декстрана, имеющие поры). Скорость прохождения белков через колонку, заполненную сефадексом, будет зависеть от их молекулярной массы: чем меньше масса молекул белка, тем легче они проникают внутрь гранул и дольше там задерживаются, чем больше масса, тем быстрее они элюируют с колонки.
- **Ультрацентрифугирование** — метод, заключающийся в том, что белки в центрифужной пробирке помещают в ротор ультрацентрифуги. При вращении ротора скорость оседания белков пропорциональна их молекулярной массе: фракции более тяжелых белков расположены ближе ко дну пробирки, более легкие — ближе к поверхности.
- **Электрофорез** — метод, в основе которого лежат различия в скорости движения белков в электрическом поле. Эта величина пропорциональна заряду белков. Электрофорез белков проводят на бумаге (в этом случае скорость движения белков пропорциональна только их заряду) или в полиакриламидном геле с определенной величиной пор (скорость движения белков пропорциональна их заряду и молекулярной массе).
- **Ионообменная хроматография** — метод фракционирования, основанный на связывании ионизированных групп белков с противоположно заряженными группами ионообменных смол (нерастворимых полимерных материалов). Прочность связывания белка со смолой пропорциональна заряду белка. Белки, адсорбированные на ионообменном полимере, можно смыть растворами NaCl с возрастающими концентрациями; чем меньше заряд белка, тем меньшая концентрация NaCl потребуется, чтобы смыть белок, связанный с ионогенными группами смолы.
- **Аффинная хроматография** — наиболее специфический метод выделения индивидуальных белков.К инертному полимеру ковалентно присоединяется лиганд какого-либо белка. При пропускании раствора белков через колонку с полимером за счет комплементарного связывания белка с лигандом на колонке адсорбируется только специфичный для данного лиганда белок.
- **Диализ** — метод, применяемый для удаления низкомолекулярных соединений из раствора выделяемого белка. Метод основан на неспособности белков проходить через полупроницаемую мембрану в отличие от низкомолекулярных веществ. Применяется для очистки белков от низкомолекулярных примесей, например от солей после высаливания.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Заполните табл. 1.4.

Таблица 1.4. Сравнительный анализ структуры и функций родственных белков — миоглобина и гемоглобина

Строение и функции белка (характеристики)	Миоглобин	Гемоглобин
Первичная структура		
Вторичная структура		
Третичная структура		
Четвертичная структура		
Функции		

а) вспомните строение активного центра Мв и Hb. Какую роль играют гидрофобные радикалы аминокислот в формировании активных центров этих белков? Опишите строение активного центра Мв и Hb и механизмы присоединения к нему лигандов. Какую роль играют остатки Гис F_8 и Гис E_7 в функционировании активного центра Мв иНв?

б) какими новыми свойствами по сравнению с мономерным миоглобином обладает близко родственный олигомерный белок — гемоглобин? Объясните роль кооперативных изменений конформации протомеров в молекуле гемоглобина, влияние концентраций CO_2 и протонов на сродство гемоглобина к кислороду, а также роль 2,3-БФГ в аллостерической регуляции функции Hb.

2. Дайте характеристику молекулярным шаперонам, обращая внимание на связь их структуры с функцией.

3. Какие белки объединяют в семейства? На примере семейства иммуноглобулинов определите сходные черты строения и родственные функции белков этого семейства.

4. Часто для биохимических и медицинских целей требуются очищенные индивидуальные белки. Объясните, на каких физико-химических свойствах белков основаны используемые методы их разделения и очистки.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

Функции гемоглобина:

А. Транспорт O_2 из легких в ткани

Б. Транспорт H^+ из тканей в легкие

В. Поддержание постоянства pH крови

Г. Транспорт CO_2 из легких в ткани

Д. Транспорт CO_2 из тканей в легкие

2. Выберите правильные ответы.

Лигандом α-протомера Нв является:

А. Гем

Б. Кислород
В. CO
Г. 2,3-БФГ
Д. β-Протомер

3. Выберите правильные ответы.

Гемоглобин в отличие от миоглобина:

А. Имеет четвертичную структуру
Б. Вторичная структура представлена только α-спиралями
В. Относится к сложным белкам
Г. Взаимодействует с аллостерическим лигандом
Д. Ковалентно связан с гемом

4. Выберите правильные ответы.

Сродство Нв к O_2 уменьшается:

А. При присоединении одной молекулы O_2
Б. При отщеплении одной молекулы O_2
В. При взаимодействии с 2,3-БФГ
Г. При присоединении к протомерам H^+
Д. При снижении концентрации 2,3-БФГ

5. Установите соответствие.

Для типов Нв характерно:

А. В дезокси форме образует фибриллярные агрегаты
Б. Содержит в составе две α- и две δ-цепи
В. Преобладающая форма Нв в эритроцитах взрослого человека
Г. В активном центре содержит гем с Fe^{+3}
Д. Содержит в составе две α- и две γ-цепи

1. НвА
2. НвS
3. НвМ

6. Установите соответствие.

Лиганды Нв:

А. Связывается с Нв в аллостерическом центре
Б. Имеет очень высокое сродство к активному центру Нв
В. Присоединяясь, повышает сродство Нв к O_2
Г. Окисляет Fe^{+2} в Fe^{+3}
Д. Образует ковалентную связь с ГисF$_8$

1. O_2
2. CO
3. 2,3-БФГ

7. Выберите правильные ответы.

Шапероны:

А. Белки, присутствующие во всех отделах клетки
Б. Синтез усиливается при стрессовых воздействиях
В. Участвуют в гидролизе денатурированных белков
Г. Участвуют в поддержании нативной конформации белков
Д. Создают органеллы, в которых формируется конформация белков

8. Установите соответствие.

Иммуноглобулины:

А. Секреторная форма имеет пентамерную форму

Б. Класс Ig, проникающих через плацентарный барьер

В. Ig — рецептор тучных клеток

Г. Основной класс Ig, присутствующих в секретах эпителиальных клеток.

Д. Рецептор В-лимфоцитов, активация которого обеспечивает размножение клеток

1. IgA
2. IgG
3. IgE

9. Выберите правильные ответы .

Иммуноглобулины Е:

А. Вырабатываются макрофагами

Б. Имеют тяжелые ε-цепи.

В. Встраиваются в мембрану Т-лимфоцитов

Г. Выполняют роль мембранных рецепторов антигенов на тучных клетках и базофилах

Д. Ответственны за проявление аллергических реакций

10. Выберите правильные ответы.

Метод разделения белков основан на различиях в их молекулярной массе:

А. Гель-фильтрация

Б. Ультрацентрифугирование

В. Электрофорез в полиакриламидном геле

Г. Ионообменная хроматография

Д. Аффинная хроматография

11. Выберите правильный ответ.

Метод разделения белков основан на различиях в их растворимости в воде:

А. Гель-фильтрация

Б. Высаливание

В. Ионообменная хроматография

Г. Аффинная хроматография

Д. Электрофорез в полиакриламидном геле

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. А, Б, В, Д
2. А, Б, В, Д
3. А, Г
4. Б, В, Г
5. 1—В, 2—А, 3—Г
6. 1—В, 2—Б, 3—А
7. А, Б, Г, Д
8. 1—Г; 2—Б, 3—В
9. Б, Г, Д
10. А, Б, В
11. Б

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Олигомерные белки, протомер, четвертичная структура белков
2. Кооперативные изменения конформации протомеров
3. Эффект Бора
4. Аллостерическая регуляция функций белков, аллостерический центр и аллостерический эффектор
5. Молекулярные шапероны, белки теплового шока
6. Семейства белков (сериновые протеазы, иммуноглобулины)
7. Ig- M-, G-, E-, A-связь структуры с функцией
8. Суммарный заряд белков, изоэлектрическая точка белков
9. Электрофорез
10. Высаливание
11. Гель-фильтрация
12. Ионообменная хроматография
13. Ультрацентрифугирование
14. Аффинная хроматография
15. Электрофорез белков плазмы крови

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Сравните зависимости степеней насыщения гемоглобина (Hв) и миоглобина (Mb) кислородом от его парциального давления в тканях (рис. 1.34).

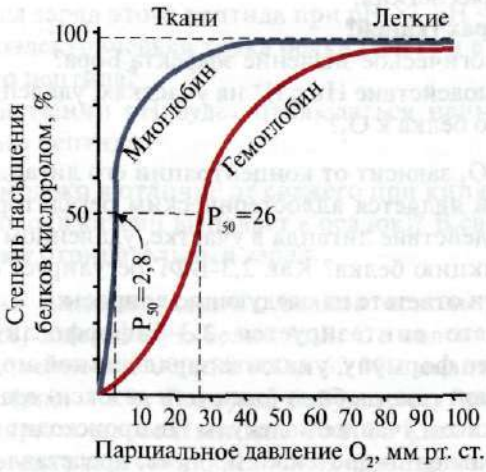


Рис. 1.34. Зависимость насыщения Mв и Hb кислородом от его парциального давления

Обратите внимание, что форма кривых насыщения белков кислородом различна: для миоглобина — гипербола, для гемоглобина — сигмоидная форма.

1. сравните значения парциального давления кислорода, при котором Мв и Нв насыщены O_2 на 50%. Какой из этих белков характеризуется более высоким сродством к O_2?
2. какие особенности строения Мв определяют его высокое сродство к O_2?
3. какие особенности строения Нв позволяют ему отдавать O_2 в капиллярах покоящихся тканей (при относительно высоком парциальном давлении O_2) и резко увеличивать эту отдачу в работающих мышцах? Какое свойство олигомерных белков обеспечивает этот эффект?
4. вычислите, какое количество O_2 (в %) отдает оксигенированный гемоглобин покоящейся и работающей мышце?
5. сделайте выводы о связи структуры белка с его функцией.

2. Количество освобождаемого гемоглобином кислорода в капиллярах зависит от интенсивности процессов катаболизма в тканях (эффект Бора). Как изменения метаболизма в тканях регулируют сродство Hb к O_2?

Влияние CO_2 и H^+ на сродство Hb к O_2

$$\underbrace{Hb + CO_2 + H_2O}_{H_2CO_3} \rightleftharpoons \underbrace{HbH^+ + HCO^-_3}_{H_2CO_3} + O_2$$

$$H_2CO_3 \rightarrow H^+ + HCO^- \qquad H_2CO_3 \rightarrow CO_2 + H_2O$$

1. опишите эффект Бора.
2. в каком направлении протекает процесс, представленный на схеме:
   а) в капиллярах легких;
   б) в капиллярах тканей?
3. в чем физиологическое значение эффекта Бора?
4. почему взаимодействие Нв с H^+ на участках, удаленных от гема, изменяет сродство белка к O_2?

3. Сродство Hbв к O_2 зависит от концентрации его лиганда — 2,3-бифосфоглицерата, который является аллостерическим регулятором сродства Нв к O_2. Почему взаимодействие лиганда в участке, удаленном от активного центра, влияет на функцию белка? Как 2,3-БФГ регулирует сродство Hb к O_2? Для решения задачи ответьте на следующие вопросы:

1. где и из чего синтезируется 2.3-бифосфоглицерат (2,3-БФГ)? Напишите его формулу, укажите заряд данной молекулы.
2. с какой формой гемоглобина (окси или дезокси) взаимодействует БФГ и почему? В каком участке молекулы Нв происходит взаимодействие?
3. в каком направлении протекает процесс, представленный на схеме

$$4O_2 + \text{Hb-БФГ} \underset{\text{II}}{\overset{\text{I}}{\rightleftharpoons}} \text{Нв}(O_2)_4 + \text{БФГ}$$

   а) в капиллярах тканей;
   б) в капиллярах легких?

4. где должна быть более высокой концентрация комплекса Нв-2,3-БФГ:
   а) в капиллярах мышц, находящихся в состоянии покоя,
   б) в капиллярах работающих мышц (при условии одинаковой концентрации БФГ в эритроцитах)?
5. как изменится сродство Нв к кислороду при адаптации человека к условиям высокогорья, если концентрация БФГ в эритроцитах при этом повышается? В чем физиологическое значение этого явления?

4. Разрушение 2,3-БФГ при хранении консервированной крови нарушает функции Нв. Как изменится сродство Нв к O_2 в консервированной крови, если концентрация 2,3-БФГ в эритроцитах может уменьшатся с 8 до 0,5 ммол/л. Можно ли переливать такую кровь тяжелобольным пациентам, если концентрация 2,3-БФГ восстанавливается не ранее чем через трое суток? Можно ли добавлением в кровь 2,3-БФГ восстановить функции эритроцитов?

5. Вспомните строение простейших молекул иммуноглобулинов. Какую роль играют иммуноглобулины в работе иммунной системы? Почему Ig часто называют бивалентами? Как структура Ig связана с их функцией? (Опишите на примере какого-либо класса иммуноглобулинов.)

Физико-химические свойства белков и методы их разделения.

6. Как суммарный заряд белка влияет на его растворимость?
а) определите суммарный заряд пептида при pH 7

Ала-Глу-Тре-Про-Асп-Лиз-Цис

б) как изменится заряд этого пептида при pH >7, pH <7, pH <<7?
в) что такое изоэлектрическая точка белка (ИЭТ) и в какой среде лежит ИЭТ данного пептида?
г) при каком значении pH будет наблюдаться наименьшая растворимость данного пептида.

7. Почему кислое молоко в отличие от свежего при кипячении «сворачивается» (т.е. белок молока казеин выпадает в осадок)? В свежем молоке молекулы казеина имеют отрицательный заряд.

8. Для разделения индивидуальных белков используется метод гель-фильтрации. Смесь, содержащую белки А, В, С с молекулярными массами, равными соответственно 160 000, 80 000 и 60 000, анализировали методом гель-фильтрации (рис. 1.35). Гранулы набухшего геля проницаемы для белков с молекулярной массой меньше 70 000. Какой принцип лежит в основе данного метода разделения? Какой из графиков правильно отражает результаты фракционирования? Укажите порядок выхода белков А, В и С с колонки.

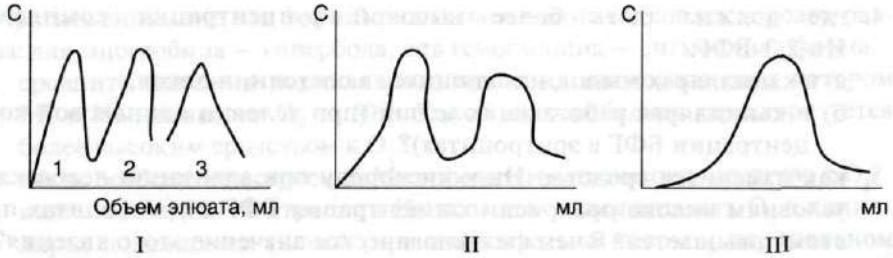


Рис. 1.35. Использование метода гель-фильтрации для разделения белков

9. На рис. 1.36, А представлена схема электрофореза на бумаге белков сыворотки крови здорового человека. Относительные количества белковых фракций, полученных с помощью этого метода, составляют: альбумины 54—58%, α_1-глобулины 6—7%, α_2-глобулины 8—9%, β-глобулины 13%, γ-глобулины 11—12%.

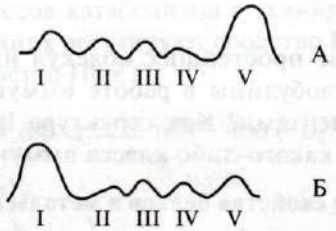


Рис. 1.36 Электрофорез на бумаге белков плазмы крови здорового человека (А) и больного (Б)
I — γ-глобулины; II — β-глобулины; III — α_2-глобулин; IV — α_2-глобулин; V — альбумины

Многие болезни сопровождаются количественными изменениями в составе сывороточных белков (диспротеинемии). Характер этих изменений учитывается при постановке диагноза и оценке тяжести и стадии заболевания.

С помощью данных, приведенных в табл. 1.5, сделайте предположение о заболевании, для которого характерен электрофоретический профиль, представленный на рис. 1.36.

Таблица 1.5. Изменение концентрации белков сыворотки крови при патологии

Название белка (фракции)	Заболевания, при которых происходят изменения соотношения белков сыворотки крови (↑ повышается, ↓ понижается)
γ-Глобулины	↑ Хронические воспаления, цирроз печени, миелоз
β-Глобулины	↑ Нефроз, атеросклероз
α_2-Глобулины	↑ Опухоли (рак, саркома), болезни печени, ↓ респираторные болезни (новорожденных)
Альбумины	↓ Нефроз, цирроз печени

Модуль 2

ЭНЗИМОЛОГИЯ

Структура модуля	Тема
Модульная единица 1	2.1. Свойства ферментов как белковых катализаторов 2.2. Активный центр: специфичность действия ферментов 2.3. Механизм действия ферментов 2.4. Кофакторы и коферменты 2.5. Классификация и номенклатура ферментов 2.6. Основы кинетики ферментативного катализа
Модульная единица 2	2.7. Ингибиторы активности ферментов 2.8. Регуляция активности ферментов 2.9. Применение ферментов в медицине 2.10. Энзимопатии

Модульная единица 1
ФЕРМЕНТЫ КАК БЕЛКОВЫЕ КАТАЛИЗАТОРЫ

Цели изучения

Уметь:

1. Объяснять свойства ферментов и особенности ферментативного катализа их белковой природой.
2. Оценивать роль витаминов в питании человека как субстратов для синтеза коферментов.
3. Определять принадлежность ферментов к определенному классу и подклассу в соответствии с их номенклатурой.
4. Рассчитывать активность ферментов и оценивать сродство фермента к субстрату.

Знать:

1. Особенности строения ферментов как белковых катализаторов.
2. Виды специфичности ферментов.
3. Основы классификации ферментов, классы ферментов, примеры катализируемых ферментами реакций.
4. Строение коферментов и кофакторов и их роль в ферментативном катализе, роль витаминов в этом процессе.
5. Основы ферментативной кинетики.
6. Единицы активности ферментов и способы их определения.

ТЕМА 2.1. СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ КАК БЕЛКОВЫХ КАТАЛИЗАТОРОВ

1. Ферменты — это белковые катализаторы, ускоряющие химические реакции в живых клетках. Они обладают всеми свойствами, характерными для белков, и определенными особенностями строения, обусловливающими их каталитические свойства. Ферменты, кроме того, подчиняются общим законам катализа и обладают свойствами, характерными для небиологических катализаторов: ускоряют энергетически возможные реакции, сохраняют энергию химической системы постоянной, не расходуются в процессе реакции.

2. Для ферментов характерны:

- **специфичность.** Биологическая функция фермента, как и любого белка, обусловлена наличием в его структуре активного центра, с которым взаимодействует определенный лиганд. Лиганд, взаимодействующий с активным центром фермента, называется **субстратом**.
- **каталитическая эффективность.** Большинство катализируемых ферментами реакций высокоэффективны, они протекают в 10^8—10^{14} раз быстрее, чем некатализируемые реакции. Каждая молекула фермента способна за секунду трансформировать от 100 до 1000 молекул субстрата в продукт.
- **конформационная лабильность.** Каталитическая эффективность фермента, как и любой белковой молекулы, зависит от его конформации и, в частности, от конформации активного центра. В клетках имеются вещества, которые могут вызывать незначительные изменения конформации молекулы фермента за счет разрыва одних и образования других слабых связей; это может вызывать как повышение, так и снижение активности фермента.

3. Активность ферментов может регулироваться. Действие ферментов в клетке, как правило, строго упорядочено: продукт одной ферментативной реакции является субстратом другой; таким образом образуются **метаболические пути**. Среди множества ферментов практически каждого метаболического пути имеются ключевые, или **регуляторные,** ферменты, активность которых может изменяться в зависимости от потребности клетки в конечном продукте метаболического пути.

4. Оптимальные условия протекания ферментативных реакций: температура 37—38 °С; нормальное атмосферное давление, pH 6,9—7,7, характерное для большинства тканей. В отличие от этого для эффективного химического катализа часто требуются высокие температура и давление, а также экстремальные значения pH.

ТЕМА 2.2. АКТИВНЫЙ ЦЕНТР: СПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

1. Активный центр ферментов — это определенный участок белковой молекулы, способный комплементарно связываться с субстратом и обеспечивающий его каталитическое превращение. Структура активного центра сформирована радикалами аминокислот, так же как и в случае активного центра любого белка. В активном центре фермента имеются аминокислотные остатки, функциональные группы которых обеспечивают комплементарное связывание субстрата (участок связывания), и аминокислотные остатки, функциональные группы которых осуществляют химическое превращение субстрата (каталитический участок) (рис. 2.1).

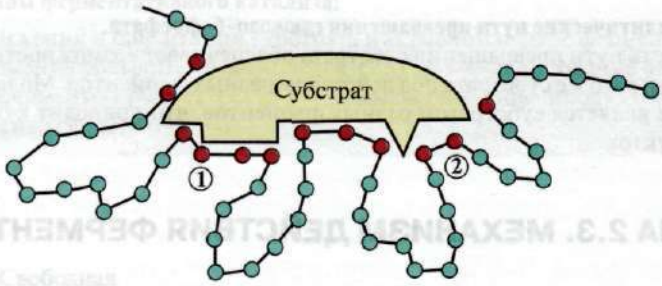


Рис. 2.1. Схема строения активного центра фермента.
Красным цветом отмечены аминокислоты, образующие активный центр *фермента: 1 — участок связывания; 2 — каталитический участок*

2. Специфичность — наиболее важное свойство ферментов, определяющее биологическую значимость ферментов. Различают **субстратную и каталитическую специфичности фермента,** которые определяются строением активного центра.

3. Под **субстратной специфичностью** понимается способность каждого фермента взаимодействовать лишь с одним или несколькими определенными субстратами.

Различают:

- **абсолютную субстратную специфичность**, если активный центр фермента комплементарен только одному субстрату;
- **групповую субстратную специфичность**, если фермент катализирует однотипную реакцию с небольшим количеством (группой) структурно похожих субстратов;
- **стереоспецифичность**, если фермент проявляет абсолютную специфичность только к одному из существующих стереоизомеров субстрата.

4. Каталитическая специфичность, или специфичность пути превращения субстрата, обеспечивает преобразование одного и того же субстрата под действием разных ферментов. Это обеспечивается строением каталитических участков активных центров соответствующих ферментов. Например, молекула

глюкозо-6-фосфата в клетках печени человека является субстратом четырех различных ферментов: фосфоглюкомутазы, глюкозо-6-фосфатфосфатазы, фосфоглюкоизомеразы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Однако за счет особенностей строения каталитических участков этих ферментов происходят различные превращения глюкозо-6-фосфата с образованием четырех различных продуктов (рис. 2.2).

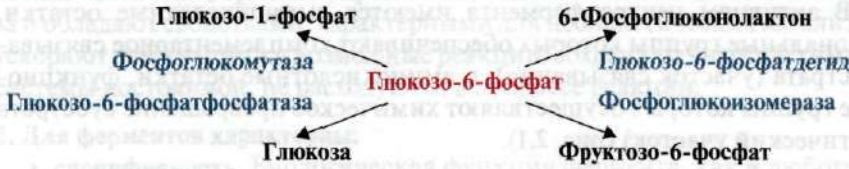


Рис. 2.2. Каталитические пути превращения глюкозо-6-фосфата.
Специфичность пути превращения субстрата обеспечивает возможность преобразования одного и того же субстрата под действием разных ферментов. Молекула глюкозо-6-фосфата является субстратом разных ферментов, что приводит к образованию разных продуктов

ТЕМА 2.3. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

1. В ходе катализа субстрат, связанный с активным центром фермента в фермент-субстратный (ES) комплекс, претерпевает химическое превращение в продукт, который затем высвобождается. Схематично процесс катализа можно представить следующим образом:

$$\mathbf{E + S \leftrightarrow ES \leftrightarrow EP \rightarrow E + P},$$

где E — фермент (энзим), S — субстрат, P — продукт.

Процесс ферментативного катализа условно можно разделить на этапы (рис. 2.3). На этапе I происходит сближение и ориентация субстрата в области активного центра фермента. На этапе II в результате **индуцированного соответствия** [изменение конформации субстрата (S) и активного центра фермента] образуется фермент-субстратный комплекс (ES). На этапе III происходит дестабилизация связей в субстрате и образование нестабильного комплекса фермент—продукт (EP). На этапе IV происходит распад комплекса (EP) с высвобождением продуктов реакции из активного центра и освобождением фермента.

2. Для понимания энергетики химической реакции необходимо учитывать изменение энергии субстратов и продуктов реакции, а также роль ферментов в этом процессе. Известно, для того чтобы прошла реакция, субстраты должны получить такое количество дополнительной энергии (называемой энергией активации E_a), которое необходимо для вступления молекул субстрата в реакцию (рис. 2.4). В случае ферментативной реакции происходит снижение энергии активации, что обеспечивает более эффективное протекание реакции.

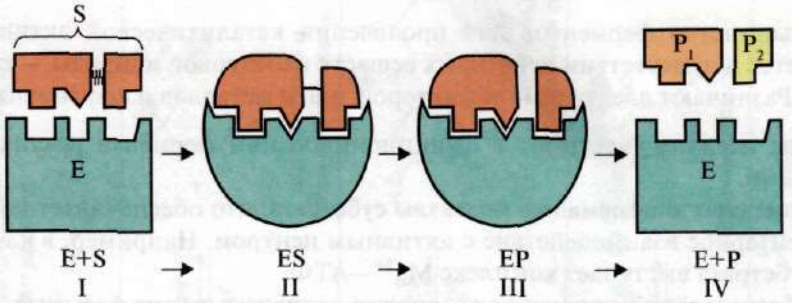
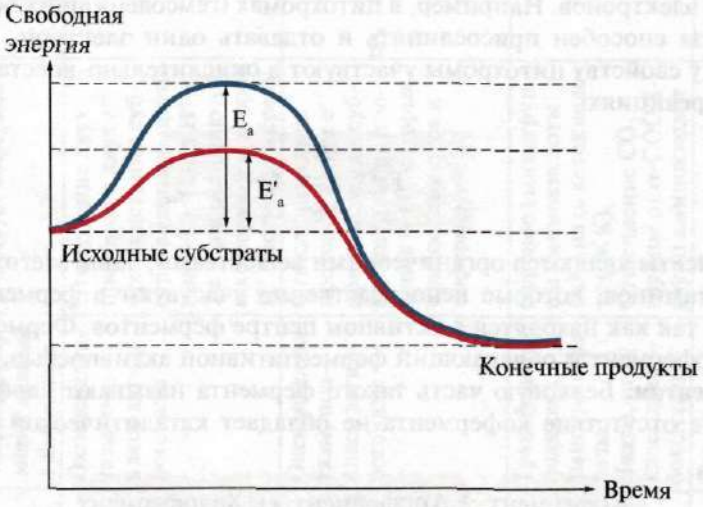


Рис. 2.3. Этапы ферментативного катализа:

I — этап сближения и ориентации субстрата в активном центре фермента; II — образование фермент-субстратного комплекса (ES); III — образование нестабильного комплекса фермент—продукт (EP); IV — высвобождение продуктов реакции из активного центра фермента



E_a — энергия активации некатализируемой реакции

E'_a — энергия активации катализируемой ферментом реакции

Рис. 2.4. Изменение свободной энергии в ходе химической реакции, некатализируемой и катализируемой ферментами.

Фермент понижает энергию активации E_a, т.е. снижает высоту энергетического барьера; в результате возрастает доля реакционно-способных молекул и повышается скорость реакции

ТЕМА 2.4. КОФАКТОРЫ И КОФЕРМЕНТЫ

Большинство ферментов для проявления каталитической активности нуждается в присутствии некоторых веществ небелковой природы — кофакторов. Различают две группы кофакторов: ионы металлов и коферменты.

1. Ионы металла участвуют в функционировании фермента различными способами.

- **Изменяют конформацию молекулы субстрата**, что обеспечивает комплементарное взаимодействие с активным центром. Например, в качестве субстрата выступает комплекс Mg^{2+}—АТФ.
- **Обеспечивают нативную конформацию активного центра фермента**. Ионы Mg^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Mo^{2+} участвуют в стабилизации активного центра ферментов и способствуют присоединению кофермента.
- **Стабилизируют конформацию белковой молекулы фермента**. Например, для стабилизации четвертичной структуры фермента алкогольдегидрогеназы, катализирующей реакцию окисления этанола, необходимы ионы цинка.
- **Непосредственно участвуют в ферментативном катализе**. Ионы Zn^{2+}, Fe^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+} принимают участие в электрофильном катализе. Ионы металлов с переменной валентностью могут также участвовать в переносе электронов. Например, в цитохромах (гемсодержащих белках) ион железа способен присоединять и отдавать один электрон. Благодаря этому свойству цитохромы участвуют в окислительно-восстановительных реакциях:

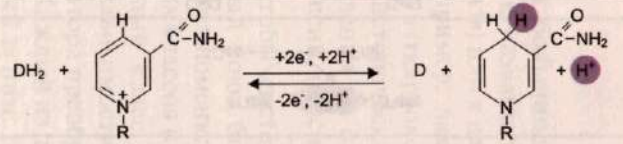
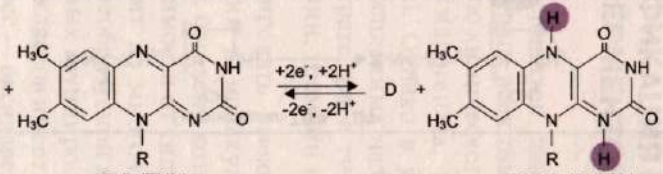
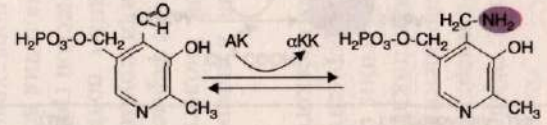
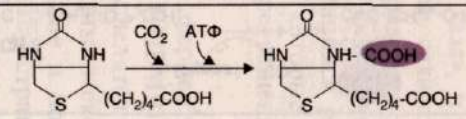
$$Fe^{2+} \underset{+e^-}{\overset{-e^-}{\rightleftarrows}} Fe^{3+}$$

2. Коферменты являются органическими веществами, чаще всего производными витаминов, которые непосредственно участвуют в ферментативном катализе, так как находятся в активном центре ферментов. Фермент, содержащий кофермент и обладающий ферментативной активностью, называют **холоферментом**. Белковую часть такого фермента называют **апоферментом**, который в отсутствие кофермента не обладает каталитической активностью.

Кофермент + Апофермент ↔ Холофермент
(белок)
не активен **активен**

Кофермент может связываться с белковой частью фермента только в момент реакции или быть связанным с апоферментом прочными ковалентными связями. В последнем случае он называется **простетической группой**. Примеры наиболее распространенных коферментов — производных витаминов, а также их участие в ферментативных процессах — приведены в табл. 2.1.

Таблица 2.1. Структура и функция основных коферментов

Кофермент	Витамин-предшественник	Класс/подкласс ферментов, использующих данный кофермент	Механизм реакции, в которой участвует кофермент	Структура кофермента или его рабочей группы, катализируемая реакция
Никотинамидные коферменты (NAD^+ и $NADP^+$)	Никотиновая кислота, никотинамид (витамин PP, витамин B_3)	**Оксидоредуктазы**, подкласс дегидрогеназы	Отщепление двух протонов и двух e^- при окислении субстрата (донора протонов – D). Один H^+ и 2 e^- присоединяются к коферменту, второй H^+ поступает в среду	 NAD⁺ (NADP⁺) окисленная форма; NADH (NADPH) + H восстановленная форма
Флавиновые коферменты (FMN и FAD)	Рибофлавин (витамин B_2)	**Оксидоредуктазы**, подкласс дегидрогеназы	Отщепление двух протонов и двух e^- при окислении субстрата (донора протонов – D), которые присоединяются к коферменту	 FAD (FMN) окисленная форма; $FADH_2$ ($FMNH_2$) восстановленная форма
Пиридоксальфосфат (ПФ)	Пиридоксин (*витамин* B_6)	**Трансферазы**, подкласс амнотрансферазы. **Лиазы**, подкласс декарбоксилазы	Перенос аминогруппы аминокислоты (АК) на α-кетокислоту (αКК). Отщепление CO_2 группы от α-COOH-групп аминокислот	 Пиридоксальфосфат (ПФ); Пиридоксаминофосфат
Биотин	Биотин (витамин H)	**Лигазы**, подкласс карбоксилазы	Карбоксилирование субстрата	 Биотин; Карбоксибиотин

Окончание табл. 2.1.

Тиамин-дифосфат (ТДФ)	Тиамин (витамин B_1)	**Лиазы**, подкласс декарбоксилазы, трансферазы	Декарбоксилирование α-кетокислот	Пируват; CO_2; ТДФ; Гидроксиэтил-ТДФ
Кофермент А (КоА)	Пантотеновая кислота (витамин B_5)	**Лигазы**, подкласс ацилсинтетазы. Транферазы, подкласс ацилтрансферазы, ацетилтрансферазы	Образование активных форм жирных кислот. Участие ацильных производных кофермента А в переносе ацильных и ацетильных групп	CH_3-COOH; HS-KoA; АТФ; АДФ+H_3PO_4; KoA; Ацетил-KoA
Липоамид	Липоевая кислота (ЛК)	**Трасферазы**, подкласс ацетилтрансферазы	Перенос остатка уксусной кислоты	Гидроксиэтил-ТДФ; ТДФ; ЛК-Е; Ацетил-ЛК-Е
Тетрогидрофолат (ТГФК, H_4-фолат)	Фолиевая кислота	**Трансферазы**, метилтрансферазы	Перенос одноуглеродных фрагментов	ТГФК; метилен-ТГФК; Сер; Гли
Аскорбиновая кислота/ Дегидроаскорбиновая кислота	Аскорбиновая кислота	Гидроксилирование, антиоксидантная функция	Окислительно-восстановительные реакции	$-2H^+; -2e^-$; $+2H^+; +2e^-$; Аскорбиновая кислота; Дегидроаскорбиновая кислота

ТЕМА 2.5. КЛАССИФИКАЦИЯ И НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

1. В названии большинства ферментов содержится суффикс «аза», присоединенный к названию субстрата реакции (например: уреаза, сахараза, липаза, нуклеаза) или к названию химического превращения определенного субстрата (например: лактатдегидрогеназа, аденилатциклаза, фосфоглюкомутаза, пируваткарбоксилаза). Однако в употреблении сохранился ряд тривиальных, исторически закрепленных названий ферментов, которые не дают представления ни о субстрате, ни о типе химического превращения (например трипсин, пепсин, ренин, тромбин и др.).

2. Для того чтобы систематизировать имеющиеся в природе ферменты, Международный союз биохимии и молекулярной биологии (IUBMB) в 1961 г. разработал номенклатуру, согласно которой все ферменты делятся на шесть основных классов в зависимости от типа катализируемой химической реакции. Каждый класс состоит из многочисленных подклассов и подподклассов, в зависимости от преобразуемой химической группы субстрата, донора и акцептора преобразуемых группировок, наличия дополнительных молекул и т.д. Каждый из шести классов имеет свой порядковый номер, строго закрепленный за ним: 1-й класс — **оксидоредуктазы**; 2-й класс — **трансферазы**; 3-й класс — **гидролазы**; 4-й класс — **лиазы**; 5-й класс — **изомеразы**; 6-й класс — **лигазы**.

Эта классификация необходима для точного определения фермента: для каждого фермента имеется кодовое число. Например, фермент маладегидрогеназа имеет систематическое название L-малат: NAD-оксидоредуктаза и кодовое число — 1.1.1.38. Первая цифра означает номер класса ферментов (в данном случае цифра 1 свидетельствует, что фермент относится к классу оксидоредуктаз); вторая цифра указывает на тип катализируемой реакции (в данном примере окислению подвергается гидроксильная группа); третья цифра означает наличие кофермента (в данном случае — кофермент NAD+), последняя цифра — это порядковый номер фермента в данной подгруппе.

3. Характеристика основных классов ферментов с примерами катализируемых ими реакций.

1. **Оксидоредуктазы** катализируют различные окислительно-восстановительные реакции. Класс делится на подклассы:
   а) **дегидрогеназы** катализируют реакции дегидрирования (отщепления водорода с переносом электронов от дегидрируемого субстрата на другой акцептор). В качестве акцепторов электронов используются коферменты NAD+, NADP+, FAD, FMN. К этому подклассу относятся ферменты малатдегидрогеназа (рис. 2.5), изоцитратдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, α-кетобутиратдегидрогеназа и др.;

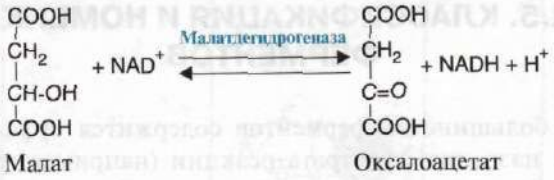


Рис. 2.5. Реакция дегидрирования малата

б) **оксидазы** — катализируют реакции окисления с участием молекулярного кислорода (рис. 2.6);

Рис. 2.6. Реакция, катализируемая ферментом цитохромоксидазой

в) **оксигеназы** (гидроксилазы) катализируют реакции окисления путем включения атома кислорода в гидроксильную группу молекулы субстрата. Реакция протекает с участием молекулярного кислорода, один атом которого присоединяется к субстрату, а второй участвует в образовании молекулы воды (рис. 2.7).

Рис. 2.7. Реакция гидроксилирования фенилаланина.

Коферменты реакции: тетрагидробиоптерин (H_4БП) и дигидробиоптерин (H_2БП)

2. Трансферазы — катализируют реакции переноса функциональных групп. В зависимости от переносимой группы подразделяются на подклассы: аминотрансферазы (рис. 2.8), ацилтрансферазы, метилтрансферазы, гликозилтрансферазы, киназы (фосфотрансферазы) (рис. 2.9).

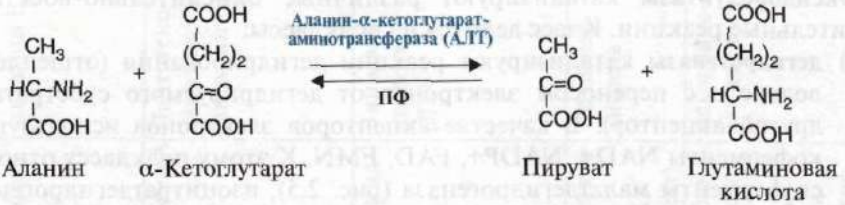


Рис. 2.8. Реакция, катализируемая ферментом АЛТ (Аланин-α-кетоглутарат-аминотрансфераза), *относящимся к классу трансфераз, подклассу аминотрансфераз.*
ПФ — кофермент пиридоксальфосфат

$$\text{Протеин} + \text{АТФ} \xrightarrow{\text{Протеинкиназа}} \text{Фосфопротеин} + \text{АДФ}$$

Рис. 2.9. Реакция, катализируемая ферментом протеинкиназа, относящимся к классу трансфераз, подклассу фосфотрансфераз.

АТФ является донором остатка фосфорной кислоты

3. Гидролазы катализируют реакции гидролиза (расщепления ковалентной связи с присоединением молекулы воды по месту разрыва). Разделяются на подклассы в зависимости от субстрата. Названия образуются в зависимости от молекулы субстрата или конкретной гидролизуемой химической связи: протеазы, амилазы, гликозидазы, нуклеазы, эстеразы, фосфатазы и др. Пример схемы реакции гидролиза молекулы белка приведен на рис. 2.10.

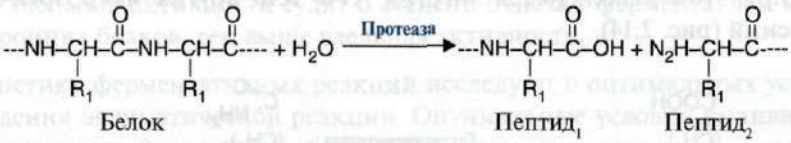


Рис. 2.10. Реакция гидролиза молекулы белка

4. Лиазы — к лиазам относятся ферменты, отщепляющие от субстратов негидролитическим путем определенные группы, такие, как CO_2, H_2O, NH_2, SH_2 и др., или присоединяющие (например, молекулу воды) по двойной связи. Реакция декарбоксилирования (отщепления молекулы CO_2) приведена на рис. 2.11, а реакция присоединения молекулы воды (гидратазная реакция) — на рис. 2.12.

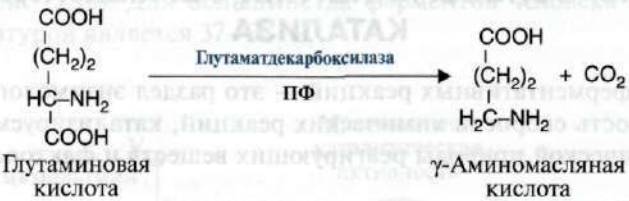


Рис. 2.11. Реакция декарбоксилирования (отщепления молекулы CO_2)

ПФ-кофермент пиридоксальфосфат

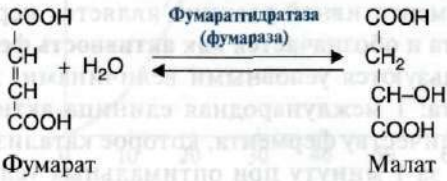


Рис. 2.12. Реакция присоединения молекулы воды к фумарату

***5. Изомеразы** катализируют различные внутримолекулярные превращения* (рис. 2.13).

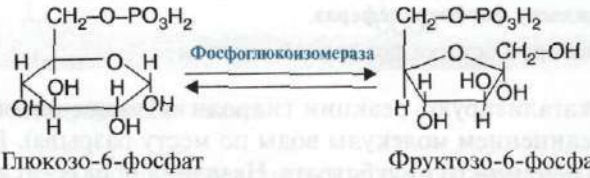


Рис. 2.13. Реакция, катализируемая ферментом фосфоглюкоизомераза

***6. Лигазы** (синтетазы) катализируют реакции усложнения молекулы за счет* присоединения друг к другу двух молекул с образованием ковалентной *связи; при этом используется энергия АТФ или других макроэргических* соединений (рис. 2.14).

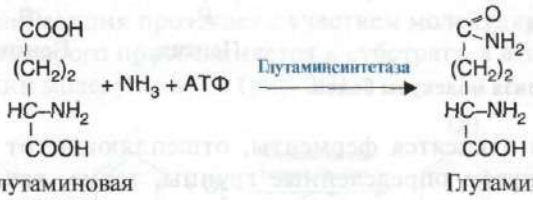


Рис. 2.14. Реакция, катализируемая ферментом глутаминсинтетазой

ТЕМА 2.6. ОСНОВЫ КИНЕТИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

1. Кинетика ферментативных реакций — это раздел энзимологии, изучающий зависимость скорости химических реакций, катализируемых ферментами, от химической природы реагирующих веществ и факторов окружающей среды.

Для измерения каталитической активности ферментов используют такие показатели, как скорость реакции или активность фермента. **Скорость ферментативной реакции** определяется уменьшением количества молекул субстрата или увеличением количества молекул продукта за единицу времени. Скорость ферментативной реакции является мерой каталитической активности фермента и обозначается как **активность фермента**.

На практике пользуются условными величинами, характеризующими активность фермента: 1 международная единица активности (МЕ) соответствует такому количеству фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата за 1 минуту при оптимальных условиях (температура 37°С, оптимальное значение pH раствора) проведения ферментативной

реакции. Эти единицы активности используют в медицинской и фармацевтической практике для оценки активности ферментов:

$$1\ \text{МЕ} = \frac{1\ \text{мкмоль превращенного субстрата}}{1\ \text{мин}}.$$

Для оценки количества молекул фермента среди других белков данной ткани определяют удельную активность (Уд.Ак.) фермента, численно равную количеству превращенного субстрата (в мкмолях) за единицу времени одним миллиграммом (мг) белка (фермента, выделенного из ткани):

$$\text{Уд.Ак.} = \frac{\text{Количество превращенного субстрата (мкмоль)}}{\text{Время (мин)} \times \text{количество белка (мг)}}.$$

По удельной активности судят о степени очистки фермента: чем меньше посторонних белков, тем выше удельная активность.

2. Кинетику ферментативных реакций исследуют в оптимальных условиях проведения энзиматической реакции. Оптимальные условия индивидуальны для каждого фермента и определяются в первую очередь температурой, при которой проводится реакция, и значением pH раствора.

- **Повышение температуры** до определенных пределов оказывает влияние на скорость ферментативной реакции подобно тому, как влияет температура на любую химическую реакцию: с увеличением температуры повышается скорость ферментативной реакции. Однако скорость ферментативной химической реакции имеет свой температурный оптимум, превышение которого сопровождается понижением ферментативной активности, что связано с термической денатурацией белковой молекулы (рис. 2.15). Для большинства ферментов человека оптимальной температурой является 37—38 °С.

Рис. 2.15. Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от температуры

- **Активность ферментов зависит от pH** раствора, при котором протекает ферментативная реакция. Влияние pH на активность ферментов обусловлено изменением ионизации функциональных групп аминокислотных остатков данного белка и субстрата, обеспечивающих оптимальное образование фермент-субстратного комплекса. Для каждого фермента существует значение pH, при котором наблюдается его максимальная активность (рис. 2.16).

Рис. 2.16. Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от pH среды

3. Кинетические характеристики ферментативной реакции зависят от концентрации реагирующих веществ. Если концентрацию фермента оставить постоянной, изменяя только количество субстрата, то график скорости ферментативной реакции описывается гиперболой (рис. 2.17). При увеличении количества субстрата начальная скорость реакции возрастает. Когда фермент становится полностью насыщенным субстратом, т.е. происходит максимально возможное при данной концентрации фермента формирование фермент-субстратных комплексов, наблюдается наибольшая скорость образования продукта. Дальнейшее повышение концентрации субстрата не приводит к увеличению количества образующегося продукта, т.е. скорость реакции не возрастает. Данное состояние соответствует максимальной скорости реакции $\mathbf{V_{max}}$.

Величина V_{max} дает характеристику каталитической активности фермента и определяет максимальную возможность образования продукта при данной концентрации фермента и в условиях избытка субстрата; V_{max} — величина, постоянная для данной концентрации фермента.

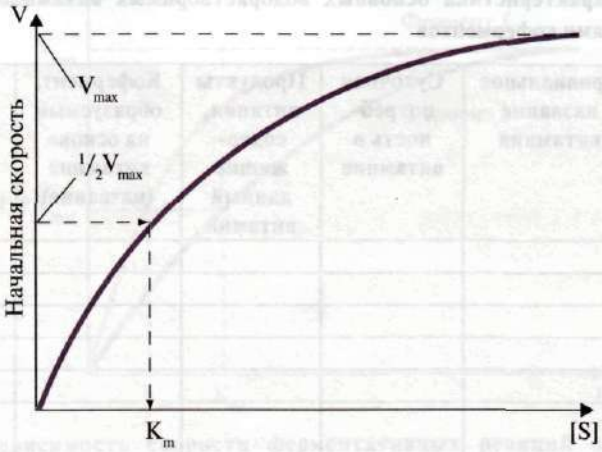


Рис. 2.17. Зависимость скорости реакции (V) от концентрации субстрата S:

V_{max} — максимальная скорость реакции при данной концентрации фермента в оптимальных условиях проведения реакции; K_m — константа Михаэлиса

4. Основной кинетической характеристикой эффективности фермента является **константа Михаэлиса — K_m**. Константа Михаэлиса численно равна *концентрации субстрата, при которой достигается половина максимальной* скорости. K_m характеризует сродство данного фермента к данному субстрату и является величиной постоянной. Чем меньше K_m, тем больше сродство фермента к данному субстрату, тем выше начальная скорость реакции, и наоборот, чем больше K_m, тем меньше сродство фермента к субстрату и меньше начальная скорость реакции.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Перенесите в тетрадь табл. 2.2. Для заполнения таблицы используйте учебник и дополнительную литературу. Сделайте вывод о необходимости разнообразного питания для здоровья человека.

2. Перенесите в тетрадь табл. 2.3 и заполните ее. Пользуясь учебником, выпишите по одной реакции с участием каждого кофермента.

3. Перенесите в тетрадь график активности ферментов (рис. 2.18). Дайте определение и укажите V_{max} этих реакций. Укажите K_m в первом и вовтором случае. Какой биохимический смысл имеет константа K_m.

Таблица 2.2. Характеристика основных водорастворимых витаминов являющихся предшественниками коферментов

Витамин	Тривиальное название витамина	Суточная потребность в витамине	Продукты питания, содержащие данный витамин	Кофермент, образуемый на основе витамина (название)	Заболевание, возникающее при дефиците витамина
B_1					
B_2					
PP					
B_6					
B_5					
Фолиевая кислота					
Липоамид					
Биотин С					

Таблица 2.3. Основные коферменты

Кофермент	Полное название кофермента	Класс/подкласс ферментов, с которым функционирует данный кофермент	Примеры ферментов (названия)
NAD^+			
$NADP^+$			
FAD			
FMN			
Биотин			
ТГФК			
Кофермент А			
Липоевая кислота			
ПФ			
ТДФ			
Аскорбиновая кислота			

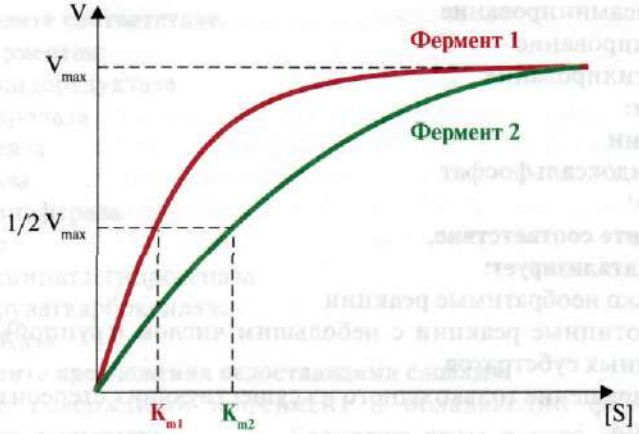


Рис. 2.18. Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

Ферменты:

А. Являются белками

Б. Снижают скорость ферментативных реакций

В. Обладают специфичностью действия

Г. Являются простыми белками

Д. Способны к регуляции

2. Выберите правильные ответы.

Константа Михаэлиса (K_m):

А. Является характеристикой субстратной специфичности фермента

Б. Численно равна концентрации субстрата, при которой наблюдается половина V_{max}

В. Характеризует сродство фермента к субстрату

Г. Характеризует насыщенность активного центра фермента субстратом

Д. Является кинетической характеристикой фермента

3. Выберите правильные ответы.

Кофермент ПФ функционирует с ферментами классов:

А. Оксидоредуктаз

Б. Трансфераз

В. Гидролаз

Г. Лиаз

Д. Изомераз

4. Установите соответствие.

Тип реакции, в которой участвует кофермент:

А. Карбоксилирование

Б. Окисление-восстановление

В. Трансаминирование
Г. Ацилирование
Д. Ацетилирование

Кофермент:

1. Биотин
2. Пиридоксальфосфат
3. NAD^+

5. Установите соответствие.

Фермент катализирует:

А. Только необратимые реакции
Б. Однотипные реакции с небольшим числом (группой) структурно сходных субстратов
В. Превращение только одного из существующих стереоизомеров субстрата
Г. Реакции в присутствии коферментов
Д. Превращение только одного субстрата

Субстратная специфичность:

1. Абсолютная
2. Групповая
3. Стереоспецифичность

6. Выполните «цепное» задание:

а) окислительно-восстановительные реакции катализируют ферменты класса:

А. Трансферазы
Б. Оксидоредуктазы
В. Лигазы

б) ферменты, относящиеся к подклассу этого класса, осуществляют реакции отщепления атомов водорода от субстрата:

А. Оксидазы
Б. Гидроксилазы
В. Дегидрогеназы

в) коферментом для этих ферментов является:

А. Биотин
Б. Кофермент А
В. NAD^+

г) кофермент построен на основе витамина:

А. Никотиновая кислота
Б. Биотин
В. Витамин B_2

д) недостаток этого витамина приводит к заболеванию:

А. Цинга
Б. Пеллагра
В. Макроцитарная анемия

7. Установите соответствие.

Класс ферментов:

А. Оксидоредуктаза

Б. Гидролаза

В. Лигаза

Г. Лиаза

Д. Трансфераза

Фермент:

1. Сукцинатдегидрогеназа
2. Пируваткарбоксилаза.
3. ДНКаза.

8. Дополните предложения недостающими словами:

Фермент, содержащий кофермент и обладающий ферментативной активностью, называют ..... Белковую часть такого фермента называют ....., который в отсутствие ..... не обладает каталитической активностью. Кофермент, связанный с апоферментом прочными ковалентными связями, называется .....

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. А, В, Д
2. Б, В, Д
3. Б, Г
4. 1—А; 2—В; 3—Б
5. 1—Д; 2—Б; 3—В
6. а) Б; б) В; в) В; г) А; д) Б
7. 1—А; 2—В; 3—Б
8. Холоферментом, апоферментом, кофермента, простетической группой

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Энзимология
2. Ферментативный катализ
3. Фермент-субстратный комплекс
4. Кинетика ферментативного катализа
5. Субстрат
6. Активный центр фермента
7. Максимальная скорость реакции — V_{max}
8. Константа Михаэлиса — K_m
9. Единицы активности ферментов
10. Классы ферментов
11. Специфичность ферментов
12. Кофакторы ферментов
13. Удельная активность фермента
14. Апофермент
15. Холофермент

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. В настоящее время в биохимических лабораториях для определения активности ферментов в биологических жидкостях человека используют автоматические биохимические анализаторы. Помогите лаборанту разобраться в реактивах, которые необходимо использовать для определения активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), а также подсчитайте активность ЛДГ у двух пациентов. Для этого:

а) напишите реакцию, которую катализирует ЛДГ;
б) укажите субстрат, кофермент, витамин-предшественник, источник фермента;
в) перечислите условия проведения реакции (температура, время);
г) объясните, по какому параметру можно оценить скорость ферментативной реакции;
е) рассчитайте активность ЛДГ в крови у пациентов в единицах МЕ/л. Сделайте вывод: у кого из пациентов активность выше.

Таблица 2.4. Данные для определения активности ЛДГ

Параметры	Пациент 1	Пациент 2
Исходное количество субстрата, взятое в реакцию, мкмоль	40	40
Объем сыворотки крови пациента, мл	5	5
Время инкубации, мин	10	10
Количество субстрата, оставшееся после проведения реакции, мкмоль	31	4

2. Человек относится к гомойотермным (температура поддерживается на постоянном уровне) живым организмам. В медицине в некоторых случаях для лечения используют экстремальные температуры. В частности, гипотермические условия используются при продолжительных операциях, особенно на головном мозге и сердце) гипертермические условия используются с целью коагуляции тканей. Объясните правомерность данных подходов с точки зрения энзимолога.

Для ответа:

а) *укажите, какая температура оптимальна для большинства ферментов человека;*
б) нарисуйте график зависимости скорости ферментативных реакций от температуры;
в) объясните необходимость проведения длительных оперативных вмешательств в гипотермических условиях;

г) опишите, на чем основан метод термической коагуляции тканей;
д) укажите последствия воздействия критических температур на человека.

3. Больная 35 лет обратилась в клинику с жалобами на воспалительные процессы слизистой оболочки ротовой полости, мышечную усталость, конъюнктивит. Больная в течение длительного времени питалась однообразно, исключая из своего рациона такие продукты, как печень, рожь, молоко, дрожжи. Врач диагностировал гиповитаминоз B_2. Объясните причины наблюдаемых симптомов. Для этого:

а) назовите коферменты, образующиеся из витамина B_2;
б) укажите, в каких реакциях участвуют данные коферменты;
в) напишите рабочие части формулы окисленной и восстановленной *форм коферментов*;
г) приведите примеры реакций с участием этих коферментов (используйте материалы учебника).

4. Фермент кислая фосфатаза осуществляет гидролиз сложных эфиров фосфорной кислоты. Этот фермент образуется в клетках печени, селезенки, *простаты; его содержат эритроциты, тромбоциты, макрофаги и остеокласты.* Этот фермент содержится также в акросоме сперматозоидов и при оплодотворении расщепляет фосфолипиды плазмолеммы ооцита. Наибольшая ферментативная активность кислой фосфатазы проявляется при кислых значениях pH (4,7—6,0). Нарисуйте график зависимости скорости реакции от pH и объясните причину изменения активности кислой фосфатазы при изменении pH. Представьте схему реакции. Определите класс фермента и его специфичность.

5. При исследовании скорости реакции превращения дипептида под действием пептидазы тонкого кишечника были получены следующие результаты: максимальная активность фермента составляет 40 мкмоль/мин•мг, Km 0,01. При какой концентрации субстрата скорость реакции равна 10 мкмоль/мин•мг? Используя данные задачи:

а) напишите схему реакции, определите класс фермента и связь, которую он разрушает в субстрате;
б) нарисуйте график зависимости скорости реакции от концентрации субстрата и ответьте на вопрос задачи;
в) дайте определение Km, укажите зависимость между величиной Km и сродством фермента к субстрату.

6. Студент определял удельную активность фермента лизоцима, выделенного из белка куриного яйца. Лизоцим гидролизует гликопротеины клеточной стенки бактерий. Студент инкубировал реакционную смесь, содержащую субстрат, фермент, буфер, обеспечивающий оптимальное значение pH 5,2 и обнаружил, что под действием 1 мг лизоцима за 15 минут образовалось всего 12 мкмоль продукта. Сделав расчет и выясняя причину

низкого значения удельной активности фермента, он вспомнил, что не включил термостат и поэтому инкубировал пробы при комнатной температуре, а $t_{опт}$ фермента 37°С. Повторив опыт при оптимальных условиях он установил, что за 15 минут по действием 1 мг лизоцима образовалось 45 мкмоль продукта. Рассчитайте удельную активность фермента в обоих случаях и объясните механизм влияния температуры на скорость ферментативной реакции.

7. Активность многих ферментов в клетке регулируется другими ферментами — протеинкиназой и фосфопротеинфосфатазой. Укажите особенности протекания этих реакций; напишите реакции, катализируемые данными ферментами, укажите, к какому классу ферментов они относятся. Отметьте субстратную специфичность.

Модульная единица 2
РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ. МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ЭНЗИМОЛОГИИ

Цели изучения

Уметь:

1. Интерпретировать результаты влияния ингибиторов — лекарств, ядов — на ферментативные реакции организма.
2. Объяснять значение регуляции активности ферментов для влияния на скорость метаболического пути.
3. Объяснять основы применения ферментов как лекарств.
4. Применять знания о свойствах ферментов и ферментном составе органов в норме и при различных нарушениях метаболизма.
5. Интерпретировать результаты определения активности ферментов в диагностике заболеваний.

Знать:

1. Классификацию ингибиторов ферментов по механизму их действия.
2. Примеры лекарственных препаратов — ингибиторов ферментов.
3. Основные механизмы регуляции активности ферментов в организме.
4. Принципы регуляции метаболических путей и роль ферментов в регуляции метаболизма.
5. Основы использования ферментов для диагностики и лечения заболеваний.

ТЕМА 2.7. ИНГИБИТОРЫ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

1. Под термином «**ингибирование** активности ферментов» понимают специфическое снижение каталитической активности, вызванное определенными химическими веществами — **ингибиторами**.

Ингибиторы представляют большой интерес для выяснения механизмов ферментативного катализа, помогают установить роль отдельных ферментативных реакций в метаболических путях организма. В основе действия многих лекарственных препаратов и ядов лежит принцип ингибирования ферментативной активности.

2. Ингибиторы способны связываться с ферментами с разной степенью прочности. На основании этого различают **обратимое** и **необратимое ингибирование**. **Обратимые ингибиторы** связываются с ферментом слабыми нековалентными связями и при определенных условиях легко отделяются от фермента:

$$E + I \leftrightarrow EI.$$

Необратимое ингибирование наблюдается в случае образования ковалентных стабильных связей между молекулой ингибитора и фермента:

$$E + I \rightarrow E\text{-}I.$$

3. По механизму действия обратимые ингибиторы подразделяются на **конкурентные** и **неконкурентные.**

Конкурентное ингибирование вызывает обратимое снижение скорости ферментативной реакции в результате связывания ингибитора с активным центром фермента, которое препятствует образованию фермент-субстратного комплекса. Такой тип ингибирования наблюдается, когда ингибитор является **структурным аналогом субстрата**; в результате возникает конкуренция молекул субстрата и ингибитора за связывание с активным центром фермента. В этом случае с ферментом взаимодействует либо субстрат, либо ингибитор, образуя комплексы фермент—субстрат (ES) или фермент—ингибитор (EI). При формировании комплекса фермента и ингибитора (EI) продукт реакции не образуется (рис. 2.19).

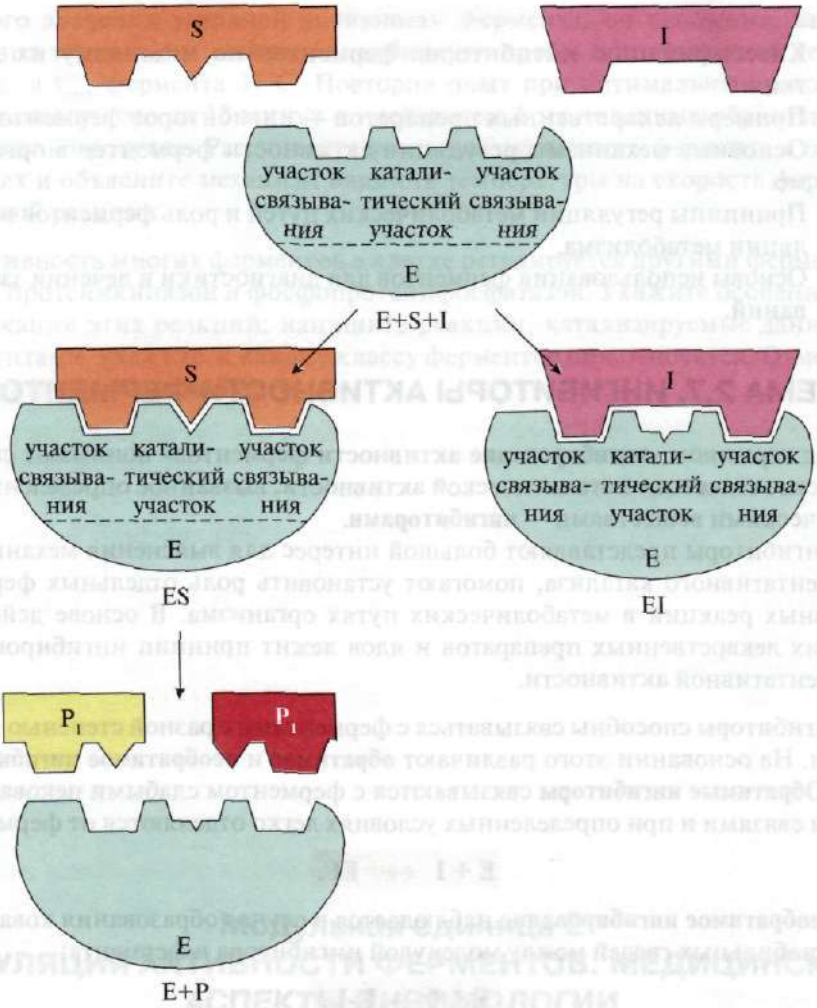


Рис. 2.19. Схема конкурентного ингибирования активности фермента

Для конкурентного типа ингибирования справедливы следующие уравнения:

$$E + S \leftrightarrow ES \rightarrow E + P;$$

$$E + I \leftrightarrow EI.$$

Отличительной особенностью конкурентного ингибирования является возможность его ослабления при повышении концентрации субстрата, так как обратимый ингибитор не изменяет структуры фермента. Поэтому при высоких концентрациях субстрата скорость реакции не отличается от таковой в отсутствие ингибитора, т.е. конкурентный ингибитор не изменяет V_{max}, но повышает K_m.

Классическим примером конкурентного ингибирования является ингибирование сукцинатдегидрогеназной реакции малоновой кислотой (рис. 2.20). Малонат является структурным аналогом сукцината (наличие двух карбоксильных групп) и может также взаимодействовать с активным центром сукцинатдегидрогеназы. Однако перенос двух атомов водорода на простетическую группу FAD от малоновой кислоты невозможен и, следовательно, скорость реакции снижается.

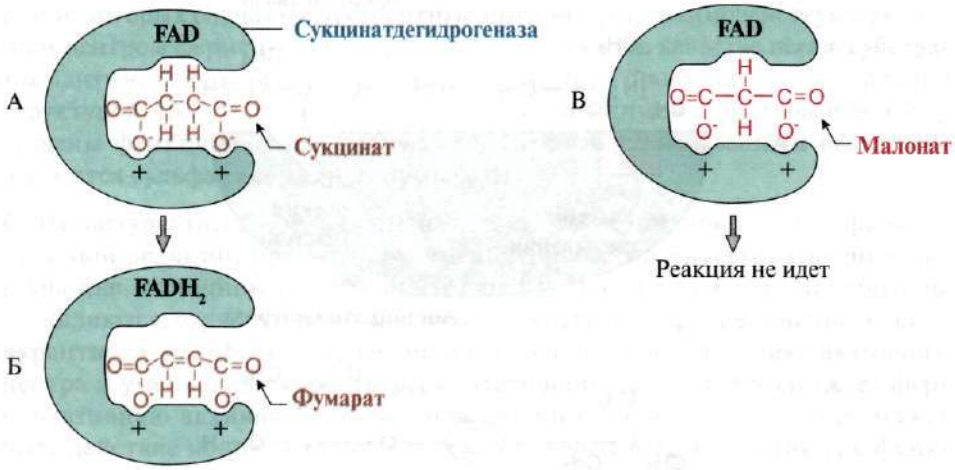


Рис. 2.20. Пример конкурентного ингибирования сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой:

А — сукцинат связывается с активным центром фермента сукцинатдегидрогеназы за счет ионных связей; Б — в ходе ферментативной реакции происходит отщепление двух атомов водорода от сукцината с присоединением их к коферменту FAD. В результате образуется фумарат, который удаляется из активного центра сукцинатдегидрогеназы; В — малонат является структурным аналогом сукцината, он также связывается с активным центром сукцинатдегидрогеназы, но химическая реакция не идет

4. Многие лекарственные препараты оказывают свое терапевтическое действие по механизму конкурентного ингибирования. Например, реакция гидролиза ацетилхолина на холин и уксусную кислоту катализируется ферментом ацетилхолинэстеразой (АХЭ) (рис. 2.21) и может быть ингибирована в присутствии конкурентных ингибиторов этого фермента (например, **прозерин, эндрофоний** и др.) (рис. 2.22). При добавлении таких ингибиторов активность ацетилхолинэстеразы уменьшается, концентрация ацетилхолина (субстрата) увеличивается, что сопровождается усилением проведения нервного импульса. Конкурентные ингибиторы ацетилхолин-эстеразы используются при лечении мышечных дистрофий, а также для лечения двигательных нарушений после травм, параличей, полиомиелита.

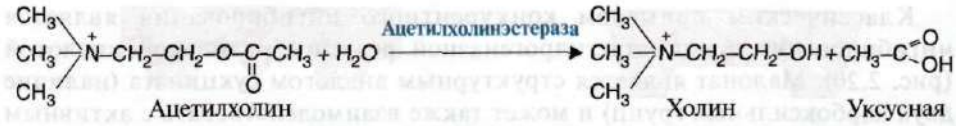


Рис. 2.21. Реакция гидролиза ацетилхолина под действием АХЭ

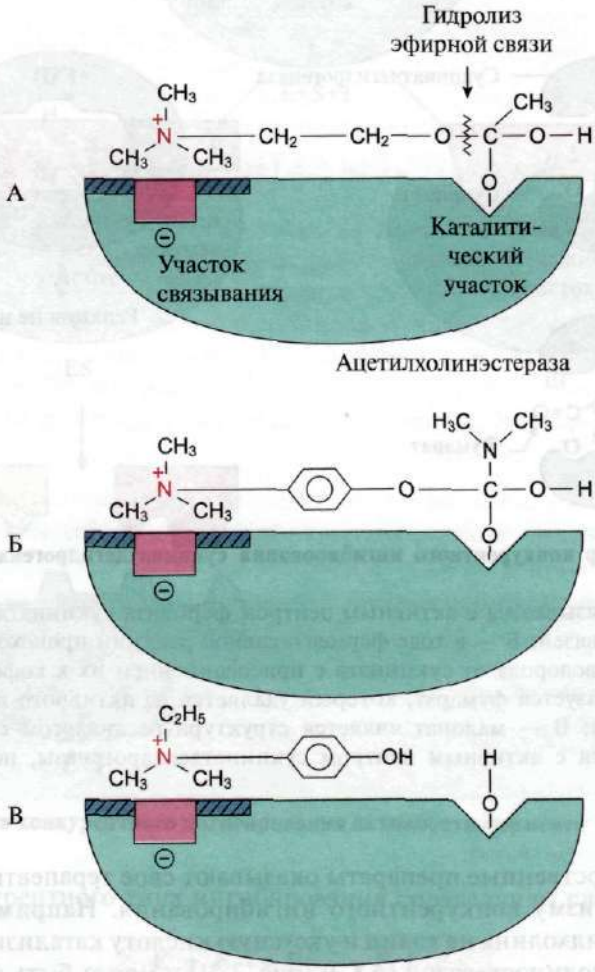


Рис. 2.22. Связывание в активном центре АХЭ конкурентных ингибиторов

А — присоединение субстрата (ацетилхолина) в активном центре фермента. Стрелкой указано место гидролиза ацетилхолина; Б — присоединение конкурентного ингибитора прозерина в активный центр фермента. Реакция не идет; В — присоединение конкурентного ингибитора эндрофония в активный центр фермента. Присоединение ингибиторов к активному центру АХЭ препятствует присоединению ацетилхолина

Другой пример лекарственных препаратов, механизм действия которых основан на конкурентном ингибировании фермента, — использование при заболеваниях поджелудочной железы (острые панкреатиты, некрозы) пептидных ингибиторов протеолитического фермента трипсина, таких как **апротинин, трасилол, контрикал**. Эти лекарственные препараты ингибируют трипсин, который высвобождается в окружающие ткани и кровь, и тем самым предотвращают нежелательные аутолитические явления при заболеваниях поджелудочной железы.

5. В некоторых случаях конкурентные ингибиторы, взаимодействуя с активным центром фермента, могут использоваться ими в качестве **псевдосубстратов** (антиметаболитов), что приводит к синтезу продукта с неправильной структурой. Полученные вещества не имеют «нужную» структуры и поэтому лишены функциональной активности. К таким лекарственным веществам относятся сульфаниламидные препараты.

6. Неконкурентным обратимым называют такое ингибирование ферментативной реакции, при котором ингибитор взаимодействует с ферментом в участке, отличном от активного центра. Неконкурентные ингибиторы не являются структурными аналогами субстрата; присоединение неконкурентного ингибитора к ферменту изменяет конформацию активного центра и уменьшает скорость ферментативной реакции, т.е. снижает ферментативную активность. Примером неконкурентного ингибитора может быть действие ионов тяжелых металлов, которые взаимодействуют с функциональными группами молекулы фермента, препятствуя катализу.

7. Необратимые ингибиторы снижают ферментативную активность в результате образования ковалентных связей с молекулой фермента. Чаще всего модификации подвергается активный центр фермента. В результате фермент не может выполнять каталитическую функцию.

Использование необратимых ингибиторов представляет больший интерес для выяснения механизма действия ферментов. Важную информацию о структуре активного центре фермента дают соединения, блокирующие определенные группы активного центра. Такие ингибиторы называют **специфическими**. К специфическим ингибиторам причисляют **диизопропилфторфосфат (ДФФ)**. ДФФ образует ковалентную связь с ОН-группой серина, содержащемся в активном центре фермента и принимающем непосредственное участие в катализе, поэтому ДФФ относят к специфическим необратимым ингибиторам «сериновых» ферментов (рис. 2.23). ДФФ используют с целью изучения структуры активного центра ферментов в энзимологии.

В отличие от специфических ингибиторов **неспецифические** ингибиторы образуют ковалентные связи с определенными группами фермента, расположенными не только в активном центре, но и в любом участке молекулы фермента. Например, ацетат йода (рис. 2.24) взаимодействует с любыми SH-группами белка. Такое взаимодействие изменяет конформацию молекулы фермента, а соответственно, и конформацию активного центра и снижает каталитическую активность.

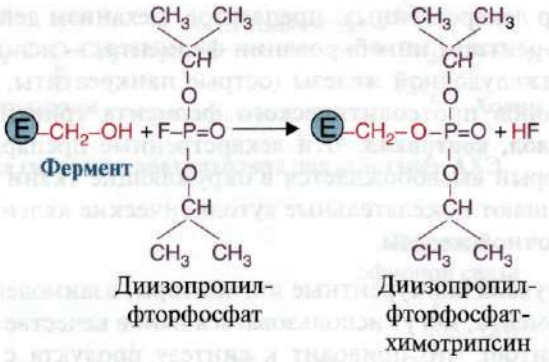


Рис. 2.23. Специфическое ингибирование активности химотрипсина с помощью ДФФ

Рис. 2.24. Неспецифическое ингибирование активности фермента ацетатом йода.

Неспецифическое ингибирование происходит вследствие ковалентной модификации SH-групп цистеина молекулами ацетата йода

8. Примером лекарственного препарата, действие которого связано с необратимым ингибированием ферментов, является широко используемый аспирин. Действие этого противовоспалительного нестероидного препарата основано на ингибировании фермента циклооксигеназы, катализирующего реакцию образования простагландинов из арахидоновой кислоты. В результате ацетильный остаток аспирина присоединяется к свободной концевой ОН-группе серина одной из субъединиц циклооксигеназы (рис. 2.25). Тем самым блокируется образование простагландинов (см. модуль 8), которые обладают широким спектром биологических функций и в том числе являются медиаторами воспаления. Поэтому аспирин относят к противовоспалительным средствам. Ингибированные молекулы фермента разрушаются, синтез простагландинов восстанавливается только после синтеза новых молекул фермента.

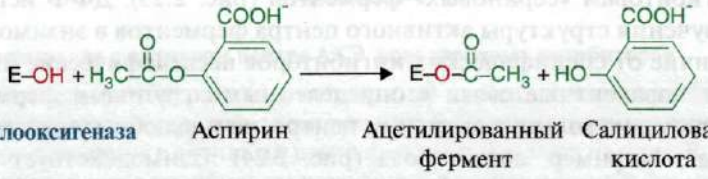


Рис. 2.25. Механизм инактивации циклооксигеназы с помощью необратимого ингибитора — аспирина

ТЕМА 2.8. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

1. Все химические реакции в клетке протекают при участии ферментов. Поэтому, чтобы воздействовать на скорость протекания метаболического пути (последовательного превращения одних веществ в другие), достаточно регулировать количество молекул фермента или их активность. Обычно в метаболических путях имеются **ключевые ферменты**, за счет которых происходит регуляция скорости всего пути. Эти ферменты (один или несколько в метаболическом пути) называются **регуляторными ферментами**. Регуляция скорости ферментативных реакций осуществляется на трех независимых уровнях: изменением количества молекул фермента, доступностью молекул субстрата и кофермента, изменением каталитической активности молекулы фермента (табл. 2.6).

Таблица 2.5. Способы регуляции скорости ферментативных реакций

Способ регуляции	Характеристика
Изменение количества молекул фермента	Количество молекул фермента в клетке определяется соотношением двух процессов: синтеза и распада. Наиболее изучен механизм регуляции синтеза фермента на уровне транскрипции (синтеза мРНК), который регулируется определенными метаболитами, гормонами и рядом биологически активных молекул
Доступность молекул субстрата и кофермента	Важный параметр, контролирующий протекание ферментативной реакции, — наличие субстрата и кофермента. Чем больше концентрация исходного субстрата, тем выше скорость реакции
Изменение каталитической активности молекулы фермента	Основными способами регуляции активности ферментов являются: — аллостерическая регуляция; — регуляция с помощью белок-белковых взаимодействий; — регуляция путем фосфорилирования–дефосфорилирования молекулы фермента; — регуляция частичным (ограниченным) протеолизом

Рассмотрим способы регуляции скорости ферментативных реакций за счет изменения каталитической активности молекулы фермента.

2. Аллостерическая регуляция. Аллостерическими ферментами называют **ферменты, активность** которых **может регулироваться** с помощью **веществ-эффекторов.** Участвующие в аллостерической регуляции эффекторы — это клеточные метаболиты, которые часто являются участниками именно того пути, регуляцию которого они осуществляют.

Эффектор, который вызывает **снижение (ингибирование)** активности фермента, называется **ингибитором**. Эффектор, который вызывает **повышение (активацию)** активности ферментов, называют **активатором**.

Аллостерические ферменты имеют определенные особенности строения:

— обычно являются **олигомерными белками**, состоящими из нескольких протомеров;

— имеют **аллостерический центр,** пространственно удаленный от каталитического активного центра;

— эффекторы присоединяются к ферменту нековалентно в аллостерических (регуляторных) центрах.

Аллостерические центры, так же как и каталитические, могут проявлять различную специфичность по отношению к лигандам: она может быть абсолютной и групповой. Некоторые ферменты имеют несколько аллостерических центров, одни из которых специфичны к активаторам, другие — к ингибиторам.

Протомер, на котором находится аллостерический центр, называется **регуляторным протомером** в отличие от **каталитического протомера**, содержащего активный центр, в котором проходит химическая реакция.

Аллостерические ферменты обладают свойством **кооперативности**: взаимодействие аллостерического эффектора с аллостерическим центром вызывает кооперативное изменение конформации всех субъединиц, приводящее к изменению конформации активного центра и изменению сродства фермента к субстрату, что снижает или повышает каталитическую активность фермента. Если к аллостерическому центру присоединяется ингибитор, то в результате кооперативных конформационных изменений происходит изменение конформации активного центра, что вызывает снижение сродства фермента к субстрату и, соответственно, снижение скорости ферментативной реакции. И наоборот, если к аллостерическому центру присоединяется активатор, то сродство фермента к субстрату увеличивается, что вызывает повышение скорости реакции. Последовательность событий при действии аллостерических эффекторов представлена на рис. 2.26.

Регуляция аллостерических ферментов **обратима**: отсоединение эффектора от регуляторной субъединицы восстанавливает исходную каталитическую активность фермента.

Аллостерические ферменты **катализируют ключевые реакции** данного метаболического пути.

Аллостерические ферменты играют важную роль в различных метаболических путях, так как они чрезвычайно быстро реагируют на малейшие изменения внутреннего состава клетки. Скорость метаболических процессов зависит от концентрации веществ, как использующихся, так и образующихся в данной цепи реакций. Исходные вещества могут быть активаторами аллостерических ферментов метаболического пути. В то же время при накапливании конечного продукта какого-либо метаболического пути он может действовать как аллостерический ингибитор фермента. Такой способ регуляции распространен в организме и носит название «отрицательная обратная связь»:

$$S \overset{E_1}{\leftrightarrow} P_1 \overset{E_2}{\rightarrow} P_2 \overset{E_3}{\leftrightarrow} P_3 \leftrightarrow \leftrightarrow \leftrightarrow Pn.$$

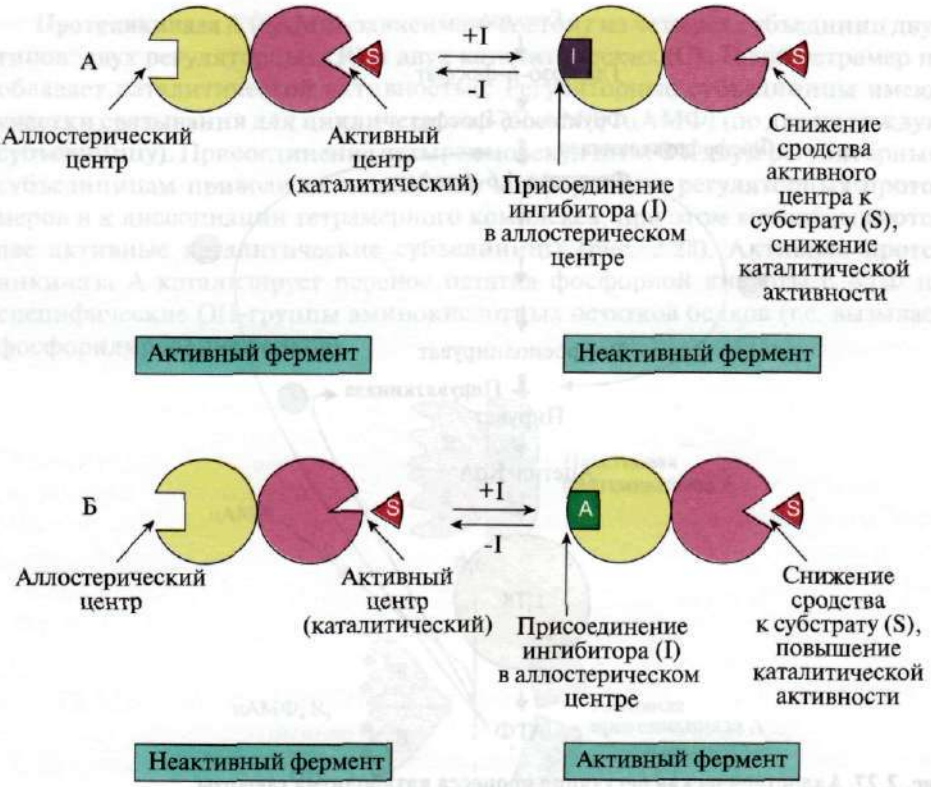


Рис. 2.26. Схема строения и функционирования аллостерического фермента:

А — действие отрицательного эффектора (ингибитора). Ингибитор (I) присоединяется к аллостерическому центру, что вызывает кооперативные конформационные изменения в молекуле фермента, в том числе и в активном центре фермента. Сродство фермента к субстрату снижается, в результате снижается и скорость ферментативной реакции; Б — действие положительного эффектора (активатора). Активатор (А) присоединяется к аллостерическому центру, что вызывает кооперативные конформационные изменения. Сродство фермента к субстрату повышается, и скорость ферментативной реакции увеличивается. Продемонстрировано обратимое действие как ингибитора, так и активатора на активность фермента

Рассмотрим аллостерическую регуляцию процесса катаболизма глюкозы, который заканчивается образованием молекулы АТФ (рис. 2.27). В том случае, если молекулы АТФ в клетке не расходуются, она является ингибитором аллостерических ферментов данного метаболического пути: фосфофруктокиназы и пируваткиназы. В то же время промежуточный метаболит катаболизма глюкозы — фруктозо-1,6-бисфосфат является аллостерическим активатором фермента пируваткиназы. Ингибирование конечным продуктом метаболического пути и активация начальными метаболитами позволяет

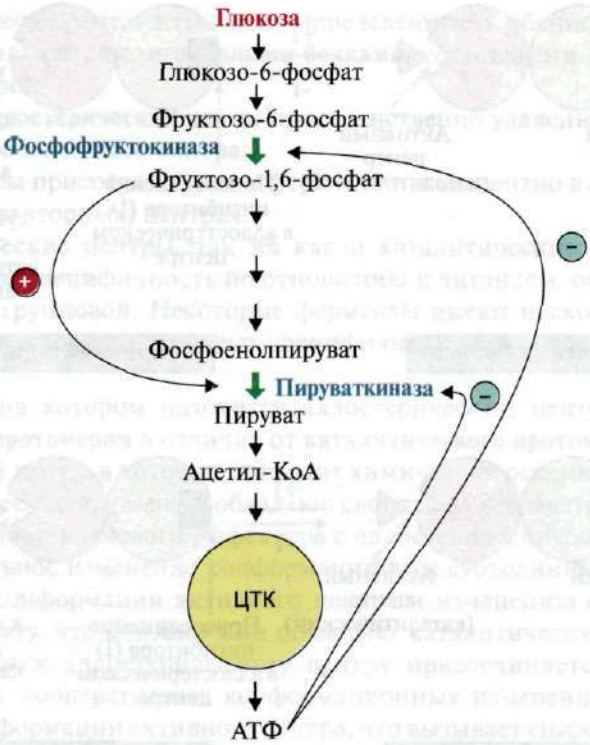


Рис. 2.27. Аллостерическая регуляция процесса катаболизма глюкозы.

Молекула АТФ является аллостерическим ингибитором ферментов метаболического пути — фосфофруктокиназы и пируваткиназы. Молекула фруктозо-1,6-бисфосфата является аллостерическим активатором фермента пируваткиназы

осуществлять регуляцию скорости метаболического пути. Аллостерические ферменты катализируют, как правило, начальные реакции метаболического пути, необратимые реакции, скорость-лимитирующие реакции (самые медленные) или реакции в месте разветвления метаболического пути.

3. Регуляция с помощью белок-белковых взаимодействий. Некоторые ферменты изменяют свою активность в результате белок-белковых взаимодействий. Можно выделить по крайней мере два механизма изменения активности фермента таким способом: активация ферментов в результате присоединения белков-активаторов (активация фермента аденилатциклазы с помощью α-субъединицы G-белка, см. модуль 4) и изменение каталитической активности в результате ассоциации и диссоциации протомеров.

В качестве примера регуляции каталитической активности ферментов ассоциацией или диссоциацией протомеров можно рассмотреть регуляцию фермента протеинкиназы А.

Протеинкиназа А (цАМФ-зависимая) состоит из четырех субъединиц двух типов: двух регуляторных (R) и двух каталитических (С). Такой тетрамер не обладает каталитической активностью. Регуляторные субъединицы имеют участки связывания для циклического 3',5'-АМФ (цАМФ) (по два на каждую субъединицу). Присоединение четырех молекул цАМФ к двум регуляторным субъединицам приводит к изменению конформации регуляторных протомеров и к диссоциации тетрамерного комплекса; при этом высвобождаются две активные каталитические субъединицы (рис. 2.28). Активная протеинкиназа А катализирует перенос остатка фосфорной кислоты с АТФ на специфические ОН-группы аминокислотных остатков белков (т.е. вызывает фосфорилирование белков).

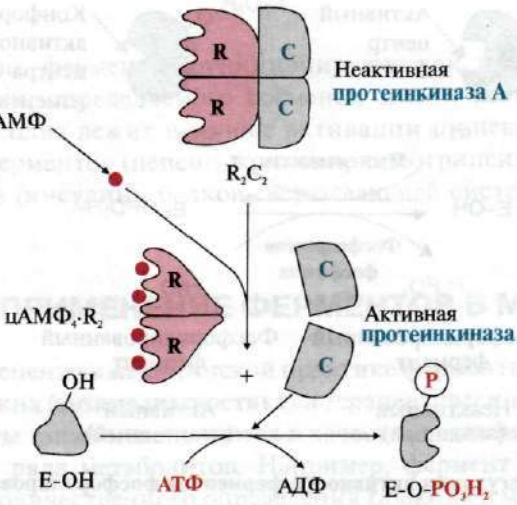


Рис. 2.28. Регуляция активности протеинкиназы А (ПКА) с помощью белок-белковых взаимодействий.

Активация ПКА осуществляется с помощью четырех молекул цАМФ, которые присоединяются к двум регуляторным субъединицам, что приводит к изменению конформации регуляторных протомеров и диссоциации тетрамерного комплекса. При этом высвобождаются две активные каталитические субъединицы, способные вызывать фосфорилирование белков

Отщепление молекул цАМФ от регуляторных субъединиц приводит к ассоциации регуляторных и каталитических субъединиц протенкиназы А с образованием неактивного комплекса.

4. Регуляция каталитической активности ферментов путем фосфорилирования—дефосфорилирования. В биологических системах часто встречается механизм регуляции активности ферментов с помощью их ковалентной модификации. Быстрым и широко распространенным способом химической модификации ферментов является их фосфорилирование—дефосфорилирование.

Фосфорилирова-нию подвергаются ОН-группы фермента, которое осуществляется ферментами **протеинкиназами** (фосфорилирование) и **фосфопротеинфосфатазами** (дефосфорилирование). Присоединение остатка фосфорной кислоты приводит к изменению конформации активного центра и его каталитической активности. При этом результат может быть двояким: одни ферменты при фосфорилировании активируются, другие, напротив, становятся менее активными (рис. 2.29). Активность протеинкиназ и фосфопротеинфосфатаз регулируется гормонами, что позволяет быстро варьировать активность ключевых ферментов метаболических путей в зависимости от условий внешней среды.

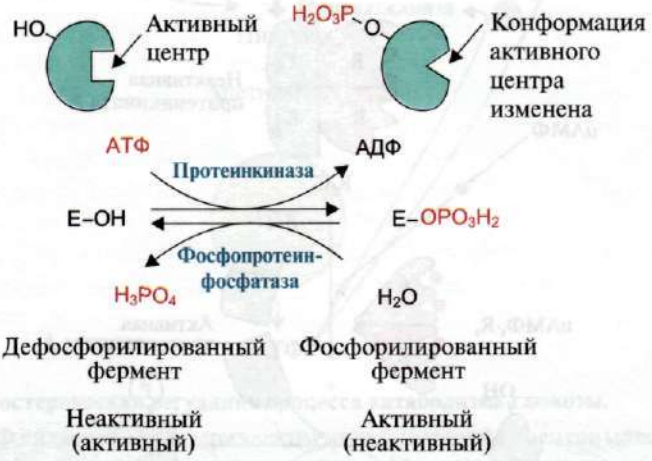


Рис. 2.29. Схема регуляции активности ферментов фосфорилированием-дефосфорилированием.

Фосфорилирование ферментов происходит с помощью фермента протеинкиназы. Донором остатка фосфорной кислоты является молекула АТФ. Фосфорилирование фермента изменяет его конформацию и конформацию активного центра, что изменяет сродство фермента к субстрату. При этом некоторые ферменты при фосфорилировании активируются, другие — ингибируются. Обратный процесс — дефосфорилирование — вызывают ферменты фосфопротеинфосфатазы, отщепляющие остаток фосфорной кислоты от фермента и возвращающие фермент в исходное состояние

5. Регуляция каталитической активности ферментов частичным (ограниченным) протеолизом. Некоторые ферменты, которые функционируют вне клеток (в желудочно-кишечном тракте или плазме крови), синтезируются в виде неактивных предшественников и активируются только в результате гидролиза одной или нескольких определенных пептидных связей, который приводит к отщеплению части молекулы. В оставшейся части белковой молекулы происходит конформационная перестройка и формируется активный центр фермента (рис. 2.30). Частичный протеолиз представляет собой пример регуляции, когда активность фермента изменяется

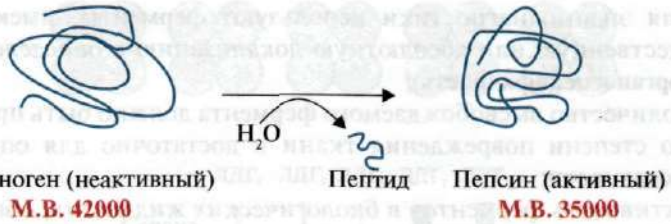


Рис. 2.30. Активация пепсина с помощью частичного протеолиза.

В результате гидролиза одной или нескольких пептидных связей пепсиногена (неактивной молекулы) отщепляется часть молекулы и формируется активный центр фермента пепсина

необратимо. Такие ферменты функционируют, как правило, в течение короткого времени, определяемого временем жизни белковой молекулы. Частичный протеолиз лежит в основе активации пищеварительных протеолитических ферментов (пепсин, трипсин, химотрипсин, эластаза), пептидных гормонов (инсулин), белков свертывающей системы крови и ряда других белков.

ТЕМА 2.9. ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ В МЕДИЦИНЕ

1. Широкое применение в медицинской практике ферменты находят в качестве диагностических (**энзимодиагностика**) и терапевтических (**энзимотерапия**) средств. Ферменты также используются в качестве **специфических реактивов** для определения ряда метаболитов. Например, фермент глюкозооксидазу применяют для количественного определения глюкозы в моче и крови; фермент уреазу используют для оценки содержания в биологических жидкостях мочевины; с помощью различных дегидрогеназ выявляют наличие соответствующих субстратов, например пирувата, лактата, этилового спирта и т.д.

2. Энзимодиагностика заключается в постановке диагноза заболевания (или синдрома) на основе определения активности ферментов в биологических жидкостях человека.

- **Принципы энзимодиагностики основаны на следующих закономерностях:**
  - в норме в сыворотке крови содержатся ферменты, выполняющие специализированные функции, например, участвующие в свертывающей системе крови. Клеточные ферменты практически не проникают из неповрежденных клеток в кровь. В минимальных количествах некоторые ферменты клеток могут определяться в крови;
  - при **повреждении** мембран клеток (воспаление, некроз) в крови или других биологических жидкостях (например, в моче) увеличивается количество внутриклеточных ферментов поврежденных клеток, активность которых можно зарегистрировать специальными биохимическими тестами;

– для энзимодиагностики используют ферменты, имеющие преимущественную или абсолютную локализацию в определенных органах (**органоспецифичность**);
– количество высвобождаемого фермента должно быть пропорционально степени повреждения ткани и достаточно для определения его активности;
– активность ферментов в биологических жидкостях, обнаруживаемых при повреждении клеток, отличается от нормальных значений и стабильна в течение достаточно длительного времени (сутки);
– *появление в плазме крови ферментов, имеющих только цитозольную* локализацию, свидетельствует о воспалительном процессе; при обнаружении митохондриальных или ядерных ферментов можно говорить о более глубоких повреждениях клетки, например некрозе.

- Ферменты, катализирующие одну и ту же химическую реакцию, но с разной первичной структурой белка, называют **изоферментами**. Они отличаются друг от друга кинетическими параметрами, условиями активации, особенностями связи апофермента и кофермента. Природа появления изоферментов разнообразна, но чаще всего обусловлена различиями в структуре генов, кодирующих эти изоферменты или их субъединицы.

На различиях в физико-химических свойствах и основаны методы определения изоферментов. Изоферменты часто являются **органоспецифичными**, так как в каждой ткани содержится преимущественно один тип изоферментов. Следовательно, при повреждении органа в крови появляется соответствующая форма изофермента. Обнаружение определенных изоферментных форм ферментов позволяет использовать их для диагностики заболеваний.

Например, фермент **лактатдегидрогеназа (ЛДГ)** катализирует обратимую реакцию окисления лактата (молочной кислоты) до пирувата (пировиноградной кислоты) (рис. 2.31). Лактатдегидрогеназа — олигомерный белок с мол. массой 134 000, состоящий из четырех субъединиц двух типов — М (от англ. muscle — мышца) и Н (от англ. heart — сердце). Комбинация этих субъединиц лежит в основе формирования пяти изоформ лактатдегидрогеназы (рис. 2.32, А). $ЛДГ_1$ и $ЛДГ_2$ наиболее активны в сердечной мышце и почках, $ЛДГ_4$ и $ЛДГ_5$ — в скелетных мышцах и печени. В остальных тканях имеются другие варианты этого фермента. Изоформы ЛДГ различаются друг от друга электрофоретической подвижностью, что позволяет устанавливать тканевую принадлежность изоформ ЛДГ (рис. 2.32, Б). Для диагностики заболеваний сердца печени и мышц необходимо исследование изоформ ЛДГ в плазме крови методом электрофореза. На рис. 2.32, В представлены электрофореграммы

Рис. 2.31. Реакция, катализируемая лактатдегидрогеназой (ЛДГ)

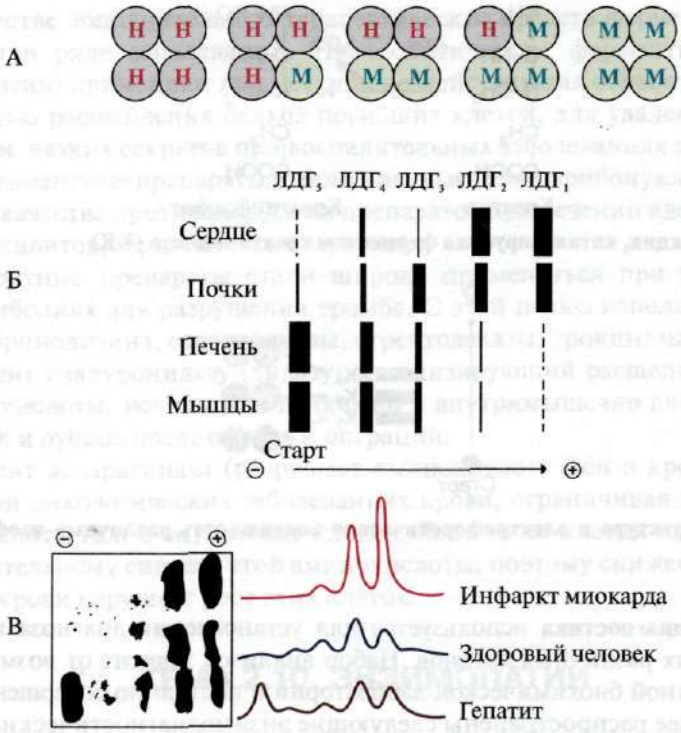


Рис. 2.32. Изоформы лактатдегидрогеназы:

А — строение различных изоформ ЛДГ; Б — распределения на электрофореграмме и относительные количества изоформ ЛДГ в различных органах; В — содержание изоформ ЛДГ в плазме крови в норме и при патологии (электрофореграммы — слева и фотометрическое сканирование — справа)

плазмы крови здорового человека, больного инфарктом миокарда и больного гепатитом. Выявление в плазме крови тканеспецифических изоформ ЛДГ широко используется в качестве диагностического теста.

Другим примером может служить креатинкиназа. **Креатинкиназа (КК)** которая катализирует реакцию образования креатинфосфата (рис. 2.33). Молекула КК представляет собой димер, состоящий из субъединиц двух типов М (от англ. muscle — мышца) и В (от англ. brain — мозг). Эти субъединицы образуют три изофермента: ВВ, МВ, ММ. Изофермент ВВ находится преимущественно в головном мозге, ММ — в скелетных мышцах и МВ — в сердечной мышце. Изоформы КК имеют разную электрофоретическую подвижность (рис. 2.34). Определение активности КК в плазме крови имеет значение при диагностике инфаркта миокарда (происходит повышение уровня МВ-изоформы). Количество изоформы ММ может повышаться при травмах и повреждениях скелетных мышц. Изоформа ВВ не может проникнуть через гематоэнцефалический барьер, поэтому в крови практически не определяется даже при инсультах и диагностического значения не имеет.

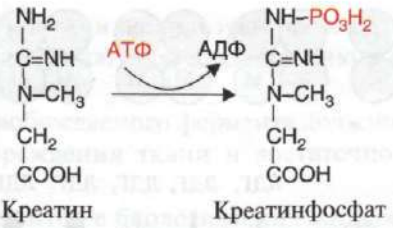


Рис. 2.33. Реакция, катализируемая ферментом креатинкиназа (КК)

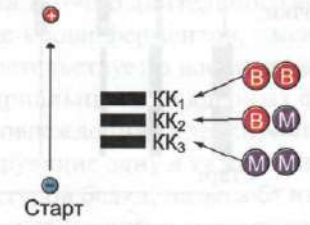


Рис. 2.34. Структура и электрофоретическая подвижность различных изоформ креатинкиназы

- **Энзимодиагностика** используется для установления диагноза при заболеваниях различных органов. Набор анализов зависит от возможностей конкретной биохимической лаборатории и постоянно совершенствуется. Наиболее распространены следующие энзимодиагностические тесты:
  - при заболеваниях сердца (инфаркт миокарда) — лактадегидрогеназа, креатинкиназа, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза. Одним из первых белков при инфаркте миокарда в крови появляется белок — тропонин;
  - при заболеваниях печени — аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, ацетилхолинэстераза, гамма-глутамилтранспептидаза. При заболеваниях поджелудочной железы — панкреатическая амилаза, липаза;
  - при заболеваниях простаты — кислая фосфатаза.

3. Применение ферментов в качестве лекарственных препаратов активно развивают в следующих направлениях:

- заместительная терапия — использование ферментов в случае их недостаточности;
- элементы комплексной терапии — применение ферментов в сочетании с другой терапией.

Заместительная энзимотерапия эффективна при желудочно-кишечных заболеваниях, связанных с недостаточностью секреции пищеварительных соков. Например, пепсин используют при гастритах со сниженной секреторной функцией. Дефицит панкреатических ферментов также в значительной степени может быть компенсирован приемом внутрь препаратов, содержащих основные ферменты поджелудочной железы (фестал, энзистал, мезимфорте и др.).

В качестве дополнительных терапевтических средств ферменты используются при ряде заболеваний. Протеолитические ферменты (трипсин, химотрипсин) применяют при местном воздействии для обработки гнойных ран с целью расщепления белков погибших клеток, для удаления сгустков крови или вязких секретов при воспалительных заболеваниях дыхательных путей. Ферментные препараты рибонуклеаза и дезоксирибонуклеаза используются в качестве противовирусных препаратов при лечении аденовирусных конъюнктивитов, герпетических кератитах.

Ферментные препараты стали широко применяться при тромбозах и тромбоэмболиях для разрушения тромба. С этой целью используют препараты фибринолизина, стрептолиазы, стрептодеказы, урокиназы.

Фермент гиалуронидазу (лидазу), катализирующий расщепление гиалуроновой кислоты, используют подкожно и внутримышечно для рассасывания спаек и рубцов после ожогов и операций.

Фермент аспарагиназа (разрушает аминокислоту Асн в крови) используется при онкологических заболеваниях крови, ограничивая поступление аминокислоты Асн в опухолевые клетки. Лейкозные клетки не способны к самостоятельному синтезу этой аминокислоты, поэтому снижение ее содержания в крови нарушает рост этих клеток.

ТЕМА 2.10. ЭНЗИМОПАТИИ

В основе многих заболеваний лежит нарушение функционирования ферментов в клетке — так называемые **энзимопатии**. Различают энзимопатии первичные (наследственные) и вторичные (приобретенные). Приобретенные энзимопатии, как и вообще протеинопатии, по-видимому, наблюдаются при всех заболеваниях.

При первичных энзимопатиях дефектные ферменты наследуются в основном, по рецессивно-аутосомному типу. При этом нарушается метаболический путь, содержащий дефектный фермент (рис. 2.35). Развитие заболевания в этом случае может происходить по одному из «сценариев»:

- нарушается образование конечных продуктов, что вызывает недостаток определенных веществ (например, при альбинизме не вырабатывается пигмент в клетках кожи);
- накапливаются субстраты-предшественники, оказывающие токсическое действие на организм (например, при алкаптонурии накапливается промежуточный метаболит — гомогентезиновая кислота, которая откладывается в суставах, вызывая в них воспалительные процессы).

$$A \xrightarrow{E_1} B \xrightarrow{E_2} C \not\xrightarrow{E_3} D \xrightarrow{E_4} E \xrightarrow{E_5} P.$$

Рис. 2.35. Метаболический путь с энзимопатией фермента E_3

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. В клетках жировой ткани переключение метаболических процессов с анаболических на катаболические происходит в зависимости от ритма питания. Важное значение в регуляции этого переключения играют гормоны, регулирующие активность ключевых ферментов путем фосфорилирования—дефосфорилирования. Дополните схему регуляции активности ключевого фермента распада жира (рис. 2.36), если известно, что этот фермент (ТАГ-липаза) активен в фосфорилированной форме, а неактивен в дефосфорилированной форме. Для ответа на вопрос:

а) перепишите схему в тетрадь и укажите названия ферментов, вызывающих фосфорилирование и дефосфорилирование белков (впишите их название в прямоугольники);

б) назовите класс этих ферментов;

в) запишите дополнительные субстраты и продукты, участвующие в этих реакциях (впишите их названия в квадраты);

г) сделайте вывод о роли гормонов в регуляции метаболизма клетки.

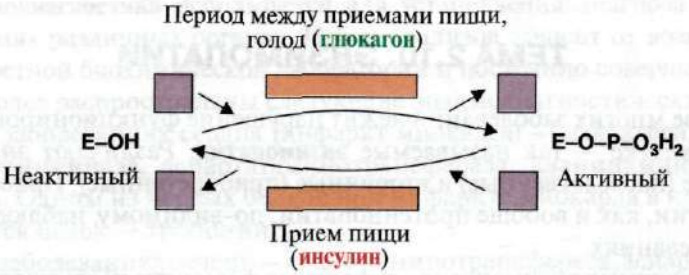


Рис. 2.36. Регуляции активности ТАГ-липазы

2. Аспарагиназа, катализирующая реакцию катаболизма аспарагина, нашла применение для лечения лейкозов. Предпосылкой антилейкемического действия аспарагиназы послужил факт выявления в лейкозных клетках дефектного фермента синтеза аспарагина — аспарагинсинтетазы. Обоснуйте лечебное действие аспарагиназы.

Для ответа:

а) напишите реакции, катализируемые ферментами аспарагинсинтетазой (раздел 7) и аспарагиназой;

б) укажите классы, к которым относятся эти ферменты;

в) сделайте вывод о концентрации Асн в опухолевых клетках при использовании аспарагиназы;

г) объясните, почему применение аспарагиназы снижает скорость роста опухолевой ткани.

3. Перенесите в тетрадь и заполните табл. 2.7 по применению ферментов в медицине с использованием материала данного пособия, учебника.

Таблица 2.6. Применение ферментов в медицине

Применение	Название фермента	Примеры использования
Для диагностики		
Для терапии		
В качестве аналитических реактивов		

4. Перенесите в тетрадь и заполните табл. 2.8 по лекарственным препаратам — ингибиторам ферментов, используя текущий раздел, учебник, дополнительную литературу.

Таблица 2.7. Лекарственные препараты — ингибиторы ферментов

Лекарственный препарат	Фермент- мишень	Механизм действия	Заболевание

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильный ответ.

Конкурентные ингибиторы:

А. Образуют ковалентные связи с активным центром фермента

Б. Взаимодействуют с аллостерическим центром

В. Взаимодействуют с активным центром фермента, образуя слабые связи

Г. Уменьшают K_m

Д. Уменьшают V_{max}

2. Выберите правильный ответ.

Необратимые ингибиторы:

А. Являются структурными аналогами субстрата

Б. Образуют с ферментом ковалентные связи

В. Образуют с ферментом слабые связи

Г. Взаимодействуют с регуляторным центром

Д. Снижают свое действие при увеличении концентрации субстрата

3. Выберите правильные ответы.

Аллостерические ферменты, как правило:

А. Являются белками с третичной структурой

Б. Состоят из нескольких протомеров
В. Ингибируются необратимо
Г. Имеют активные и аллостерические центры, расположенные на разных протомерах
Д. Регулируются метаболитами данного процесса

4. Выберите правильные ответы.

При регуляции ферментов с помощью частичного протеолиза происходит:

А. Укорочение пептидной цепи белка
Б. Изменение вторичной и третичной структуры фермента
В. Необратимая активация
Г. Необратимое ингибирование
Д. Формирование активного центра

5. Выберите правильный ответ.

Регуляция активности ферментов с помощью белок-белковых взаимодействий сопровождается:

А. Необратимым ингибированием
Б. Присоединением или отщеплением регуляторных белковых субъединиц
В. Присоединением эффекторной молекулы к аллостерическому центру
Г. Фосфорилированием фермента
Д. Дефосфорилированием фермента

6. Выберите правильные ответы.

Энзимодиагностика основана на:

А. Выходе ферментов в кровь при повреждении тканей
Б. Органоспецифичности
В. Высокой стабильности ферментов
Г. Преобладании определенных изоферментов в разных тканях
Д. Низкой активности или полном отсутствии активности диагностически значимых ферментов в крови в норме

7. Установите соответствие.

Используется для диагностики заболеваний:

А. Печени
Б. Предстательной железы
В. Поджелудочной железы
Г. Почек
Д. Сердца

Фермент:

1. Креатинкиназа
2. Амилаза
3. Кислая фосфатаза

8. Выполните «цепное» задание:

а) одним из ферментов, определяемым при энзимодиагностике инфаркта миокарда, является:

А. Кислая фосфатаза
Б. Лактатдегидрогеназа
В. Амилаза

б) этот фермент относится к классу ферментов:

А. Гидролаза

Б. Лигаза

В. Оксидоредуктаза

в) одним из коферментов этого класса ферментов является:

А. Пиридоксальфосфат

Б. Биотин

В. NAD^+

г) витамином — предшественником этого кофермента является:

А. Никотиновая кислота

Б. Пиридоксин

В. Биотин

9. Выполните «цепное» задание:

а) после отравления органическими фторфосфатами у человека наблюдается:

А. Расширение зрачка

Б. Повышенное сокращение гладких мышц

В. Расслабление гладких мышц

б) причина этого эффекта связана с:

А. Нарушением функционирования Na^+, K^+-АТФазы

Б. Увеличением количества ацетилхолина

В. Уменьшением количества ацетилхолина

в) это связано с тем, что фторфосфаты:

А. Являются конкурентным ингибитором ацетилхолинэстеразы (АХЭ)

Б. Образуют ковалентные связи с АХЭ

В. Нарушают синтез ацетилхолина

г) такой способ ингибирования называется:

А. Необратимым

Б. Обратимым

В. Конкурентным

д) аналогичный способ ингибирования наблюдается при использовании:

А. Трасилола

Б. Аспирина

В. Прозерина

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. В

2. Б

3. Б, Г, Д

4. А, Б, В, Д

5. Б

6. А, Б, Г, Д

7. 1—Д, 2—В, 3—Б

8. *а) Б, б) В, в) В, г) А*

9. а) Б, б) Б, в) Б, г) А, д) Б

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Метаболический путь
2. Ингибирование ферментов
3. Активация ферментов
4. Обратимое ингибирование
5. Необратимое ингибирование
6. Конкурентное ингибирование
7. Аллостерическая регуляция
8. Аллостерические эффекторы
9. Ключевые ферменты
10. Регуляция с помощью форсфорилирования — дефосфорилирования
11. Регуляция с помощью белок — белковых взаимодействий
12. Частичный протеолиз
13. Изоферменты
14. Энзимопатия
15. Энзимодиагностика

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. В клетках человека метаболический путь синтеза пуриновых нуклеотидов, необходимых для синтеза нуклеиновых кислот, начинается с молекулы рибозо-5-фосфата. В процессе синтеза на определенном этапе этот процесс разветвляется и заканчивается образованием двух пуриновых нуклеотидов — АМФ и ГМФ (рис. 2.37). Для образования эквимолярных соотношений этих нуклеотидов в клетке действует многоступенчатая регуляция нескольких ключевых ферментов по механизму отрицательной обратной связи. Так, при избытке образования АМФ замедляется образование аденилосукцината, а при избытке ГМФ — ксантозинмонофосфата. В то же время если оба эти нуклеотида не расходуются, замедляется образование фосфорибозилдифосфата. Предположите, какие ферменты метаболического пути синтеза пуриновых нуклеотидов являются регуляторными. Для ответа:

а) дайте определения: «метаболический путь» и «ключевые ферменты метаболического пути»;

б) предположите, какие из ферментов, представленных на рис. 2.37, являются регуляторными;

в) укажите механизм регуляции этих ферментов, их локализацию в метаболическом пути и особенности строения;

г) назовите, какие соединения и для каких ферментов являются эффекторами;

д) обоснуйте понятие регуляции «по механизму отрицательной обратной связи».

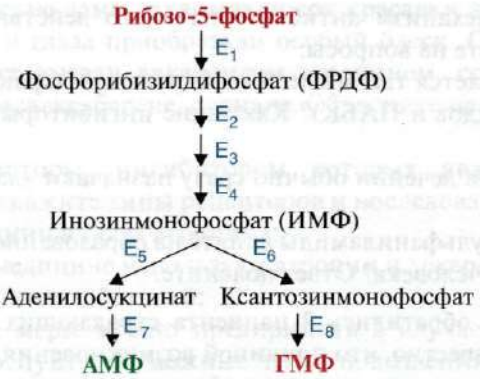


Рис. 2.37. Схема образования в клетке пуриновых нуклеотидов

2. В 1935 г. немецкий врач Г. Домагк обнаружил противомикробное действие протонзила (красный стрептоцид), синтезированного в качестве красителя. Вскоре было установлено, что действующим началом красного стрептоцида является образующийся при его метаболизме сульфаниламид (стрептоцид), который явился родоначальником большой группы сульфаниламидных препаратов (рис. 2.38).

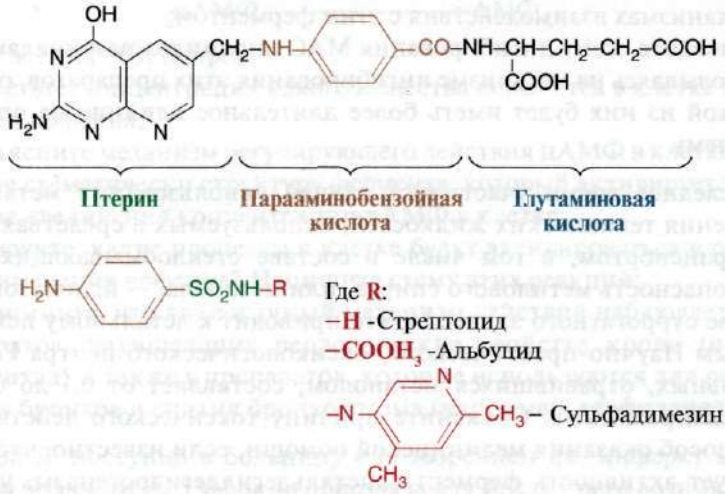


Рис. 2.38. Структура фолиевой кислоты и общая формула сульфаниламидов

Бактериостатическое действие сульфаниламидов заключается в том, что они замещают парааминобензойную кислоту (ПАБК) в активном центре фермента дигидроптеоратсинтазы в процессе синтеза бактериями фолиевой кислоты, которая необходима для образования нуклеиновых кислот; что в результате нарушается рост и развитие микроорганизмов. В организме человека фолиевая кислота не синтезируется, а поступает с пищей в качестве витамина.

Объясните механизм антибактериального действия сульфаниламидов, для этого ответьте на вопросы:

а) как называется такой тип ингибирования (сравните структуры сульфаниламидов и ПАБК)? Как такие ингибиторы влияют на K_m и V_{max} реакции?

в) почему при лечении обычно сразу назначают ударную дозу сульфаниламидов?

г) будут ли сульфаниламиды влиять на образование нуклеиновых кислот в клетках человека? Ответ поясните.

3. К психиатру обратились 2 пациента страдающих депрессивными расстройствами. Известно, что причиной возникновения депрессий у человека в ряде случаев является нехватка нейромедиаторов в синаптической щели. Также в мозге находятся ферменты группы моноаминооксидаз (МАО), которые разрушают медиаторы, выброшенные в синаптическую щель. Первому пациенту был назначен пирлиндол, который является структурным аналогом медиатора серотонина. Второму – ниаламид, который способен ковалентно связываться с активным центром МАО. Объясните механизмы действия этих препаратов и укажите, у какого пациента, скорее всего, более быстро проявится эффект от применения лекарства. Для ответа:

а) охарактеризуйте влияние этих препаратов на МАО, укажите разницу в механизмах взаимодействия с этим ферментом;

б) приведите схему ингибирования МАО пирлиндолом и ниаламидом;

в) основываясь на механизме ингибирования этих препаратов, объясните какой из них будет иметь более длительное влияние на организм и почему.

4. В последнее время участились случаи использования метанола для изготовления технических жидкостей, используемых в средствах по уходу за автотранспортом, в том числе в составе стеклоомывающих средств. Главная опасность метилового спирта, или метанола, — использование его в качестве суррогатного алкоголя, что приводит к летальному исходу. Так, по данным Научно-практического токсикологического центра Росздрава, доля больных, отравившихся метанолом, составляет от 0,1 до 0,5% всех госпитализированных. Объясните причину токсического действия метанола и способ оказания медицинской помощи, если известно, что метанол ингибирует активность фермента ацетальдегиддегидрогеназы, участвующего в катаболизме этанола, что вызывает накопление ацетальдегида. Для ответа на вопрос:

а) напишите реакции окисления этанола, учитывая, что окисление происходит в два этапа с образованием промежуточного соединения — ацетальдегида; конечным продуктом является уксусная кислота; коферментом обеих реакций является NAD^+;

б) напишите структурную формулу метанола и укажите механизм ингибирования активности фермента;

в) предложите способ лечения в случаях отравления метанолом.

5. В старину итальянские дамы закапывали сок красавки в глаза, при этом зрачки расширялись и глаза приобретали особый блеск. Сейчас известно, что подобный эффект вызван алкалоидом атропином, содержащимся во многих растениях: красавке, белене, дурмане. Объясните механизм действия атропина. Для этого:

а) назовите рецепторы, ингибитором которых является атропин (см. модуль 1), укажите типы рецепторов и последовательность событий при попадании в глаза атропина;

б) ответьте, где в медицине используют атропин и лекарственные препараты с *аналогичным действием;*

в) укажите какие меры можно предпринять в случае передозировки атропина? Обоснуйте возможные пути повышения концентрации ацетилхолина и объясните необходимость этого действия.

6. Применение больших доз **кофеина** вызывает у людей симптомы, сходные с действием адреналина: увеличение частоты сердечных сокращений; расширение бронхов, возбуждение, изменение метаболизма в тканях, депонирующих энергоносители. Объясните механизм действия кофеина, имея в виду, что он является конкурентным ингибитором фермента фосфодиэстеразы (ФДЭ), ответственного за распад цАМФ:

$$\text{цАМФ} \xrightarrow{\text{ФДЭ}} \text{АМФ}.$$

Для ответа на этот вопрос:

а) ответьте, концентрация какого вещества повысится в клетке при действии кофеина;

б) объясните механизм регулирующего действия цАМФ в клетке; изобразите схематически структуру фермента, который активируется вследствие увеличения концентрации цАМФ в клетке;

в) назовите, какие процессы в клетке будут активироваться в результате применения кофеина? Напишите схему этих реакций;

г) запомните, что аналогичный механизм действия наблюдается у препаратов, улучшающих реологические свойства крови (например, **трентал**), а также у препаратов, которые используются для расслабления бронхов и снятия бронхоспазма (например, **теофиллина**).

7. Больной Л. поступил в больницу с подозрением на инфаркт миокарда. По словам больного, за 5 часов до приезда врача врача у него возникла одышка. Врач предположил инфаркт миокарда и госпитализировал больного. В больнице для подтверждения диагноза в течение нескольких дней делали биохимический анализ крови. Результаты анализов представлены в табл. 2.9. *Подтверждают ли полученные данные диагноз врача? Для ответа:*

а) перенесите табл. 2.9 в тетрадь и подсчитайте кратность увеличения активности ферментов у больного, учитывая, что нормальные значения активностей ферментов следующие МЕ/л, для КК <190, для АСТ <47, для ЛДГ <250;

б) постройте графики динамики изменения активности исследуемых ферментов (по оси абсцисс — время, по оси ординат — кратность увеличения);

в) сделайте вывод о значимости данных результатов в постановке диагноза.

Таблица 2.8. Результаты анализа ферментов креатинкиназы (КК), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) у больного с инфарктом миокарда

Фермент	Активность, МЕ/л	Кратность	Активность, МЕ/л	Кратность
12 часов после окклюзии сосуда			72 часа после окклюзии сосуда	
КК	380		285	
АСТ	75		190	
ЛДГ	500		1750	
24 часа после окклюзии сосуда			96 часов после окклюзии сосуда	
КК	570		200	
АСТ	200		140	
ЛДГ	1000		1500	
48 часов после окклюзии сосуда			120 часов после окклюзии сосуда	
КК	380		190	
АСТ	330		70	
ЛДГ	2000		1250	

Модуль 3

МАТРИЧНЫЕ БИОСИНТЕЗЫ

Структура модуля	Тема
Модульная единица 1	3.1. Строение и функции ДНК и РНК 3.2. Биосинтез ДНК (репликация) 3.3. Репарация ошибок и повреждений ДНК 3.4. Биосинтез РНК (транскрипция). Посттранскрипционные модификации РНК
Модульная единица 2	3.5. Трансляция как механизм перевода генетической информации в фенотипические признаки 3.6. Ингибиторы матричных биосинтезов: лекарственные препараты, яды и бактериальные токсины 3.7. Механизмы адаптивной регуляции активности генов у прокариотов и эукариотов
Модульная единица 3	3.8. Механизмы, обеспечивающие разнообразие белков у эукариотов 3.9. Механизмы генетической изменчивости: эволюционная изменчивость, полиморфизм белков. Наследственные болезни 3.10. Использование рекомбинантных ДНК в медицине

Модульная единица 1
БИОСИНТЕЗ ДНК И РНК. РЕПАРАЦИЯ ОШИБОК И ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК

Цели изучения

Уметь:

1. Использовать знания о биосинтезе ДНК и РНК для понимания процессов роста и развития организма.
2. Интерпретировать сведения о работе репарирующих ферментов как об основе устойчивости генетического материала к повреждающим воздействиям внешней и внутренней среды.
3. Объяснять, что снижение эффективности репарации сопровождается накоплением ошибок в геноме и является причиной онкологических болезней и старения.

Знать:

1. Строение и функции ДНК и разных видов РНК.
2. Механизмы репликации и репарации ДНК.
3. Синтез и посттранскрипционные модификации разных видов РНК.

ТЕМА 3.1. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ДНК И РНК

1. ДНК и **РНК** представляют собой линейные полимеры, построенные из нуклеотидов. Каждый нуклеотид состоит из трех компонентов: азотистого основания, являющегося производным пурина или пиримидина, пентозы (рибозы или дезоксирибозы) и остатка фосфорной кислоты. В состав любой из нуклеиновых кислот входят два производных пурина (аденин, гуанин) и два производных пиримидина: в РНК — цитозин и урацил, а в ДНК — цитозин и тимин (табл. 3.1 и 3.2).

Таблица 3.1. Строение нуклеотидов РНК

Азотистое основание	Пентоза	Нуклеозид	Нуклеотид	Однобуквенный код
Аденин	Рибоза	Аденозин	Аденозинмонофосфат (АМФ)	A
Гуанин	Рибоза	Гуанозин	Гуанозинмонофосфат (ГМФ)	G
Урацил	Рибоза	Уридин	Уридинмонофосфат (УМФ)	U
Цитозин	Рибоза	Цитидин	Цитидинмонофосфат (ЦМФ)	C

Таблица 3.2. Строение нуклеотидов ДНК

Азотистое основание	Пентоза	Нуклеозид	Нуклеотид	Однобуквенный код
Аденин	Дезоксирибоза	д-Аденозин	Дезоксиаденозин-монофосфат (дАМФ)	A
Гуанин	Дезоксирибоза	д-Гуанозин	Дезоксигуанозин-монофосфат (дГМФ)	G
Цитозин	Дезоксирибоза	д-Цитидин	Дезоксицитидин-монофосфат (дЦМФ)	C
Тимин	Дезоксирибоза	д-Тимидин	Дезокситимидин-монофосфат (дТМФ)	T

Первичная структура нуклеиновых кислот (НК) — это порядок чередования нуклеотидов в полинуклеотидной цепи, связанных между собой 3′,5′-фосфодиэфирной связью. Образующиеся полимеры имеют фосфатный остаток на 5′-конце и свободную –ОН-группу пентозы на 3′-конце (рис. 3.1). Штрихами обозначают углеродные атомы пентозы для того, чтобы отличать их от атомов, входящих в азотистые основания.

Для краткого изображения последовательности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах пользуются однобуквенным кодом. При этом запись осуществляют слева направо таким образом, что первый нуклеотид имеет свободный 5′-фосфатный конец, а последний –ОН-группу в 3′-положении рибозы или дезоксирибозы.

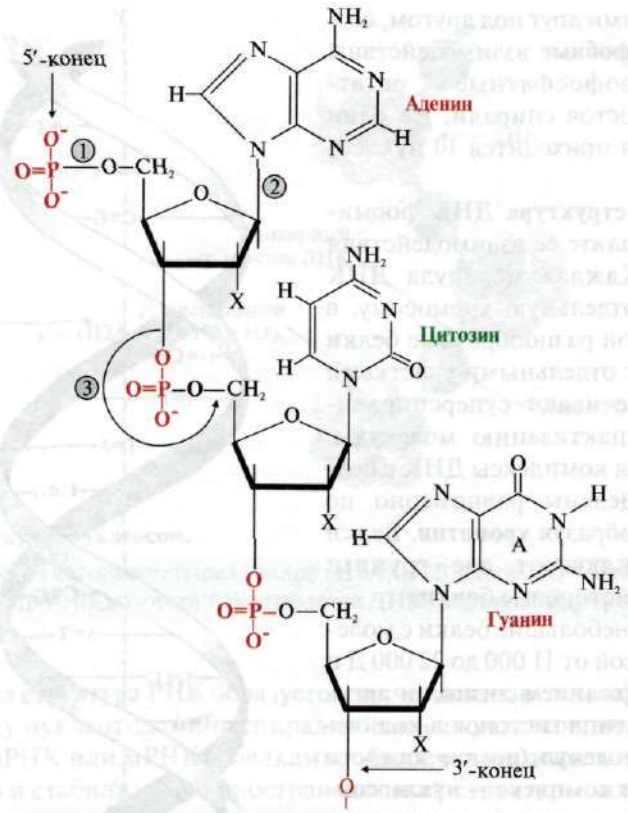


Рис. 3.1. Первичная структура нуклеиновых кислот.

X = H для ДНК, X = OH для РНК

Связи в молекуле нуклеиновых кислот:

1 — 5′-фосфоэфирная; 2 — N-гликозидная; 3 — 3′ ,5′-фосфодиэфирная

2. Пространственная структура ДНК. Вторичная структура представляет собой **правозакрученную спираль** (рис. 3.2), в которой две полинуклеотидные цепи расположены **антипараллельно** и удерживаются относительно друг друга за счет **водородных связей** между комплементарными азотистыми основаниями: A = T и G ≡ C.

Цепи молекулы ДНК **не идентичны,** но **комплементарны** друг другу: если известна первичная структура одной цепи, то последовательность нуклеотидов другой цепи задается правилом комплементарности оснований: T одной цепи соответствует A, а C — G в другой цепи. Поэтому в молекуле ДНК количество адениловых нуклеотидов равно количеству тимидиловых нуклеотидов (A = T), а количество гуаниловых равно количеству цитидиловых нуклеотидов (G = C). **Соотношение A + T / G + C** — величина постоянная и **является видоспецифической характеристикой организма**. Основания нуклеотидов обращены внутрь молекулы и лежат в одной плоскости, которая практически перпендикулярна оси спирали. Между основаниями,

расположенными друг под другом, возникают **гидрофобные** взаимодействия. Дезоксирибозофосфатные остатки образуют остов спирали. На один виток спирали приходится 10 нуклеотидных пар.

Третичная структура ДНК формируется в результате ее взаимодействия с белками. Каждая молекула ДНК упакована в отдельную хромосому, в составе которой разнообразные белки связываются с отдельными участками ДНК и обеспечивают суперспирализацию и компактизацию молекулы. В период покоя комплексы ДНК с белками распределены равномерно по объему ядра, образуя **хроматин**. Белки хроматина включают две группы: гистоны и негистоновые белки.

Гистоны — небольшие белки с молекулярной массой от 11 000 до 22 000 Д и высоким содержанием лизина и аргинина. Четыре типа гистонов в количестве восьми молекул (по две каждого вида) образуют комплекс — **нуклеосомный кор**. Этот комплекс за счет ионных связей взаимодействует с отрицательно заряженными фосфатными группами участка ДНК длиной около 146 нуклеотидных пар (примерно 1,75 витка вокруг кора) и образует структуру, называемую ***нуклеосомой***. Между нуклеосомами находятся участки ДНК длиной около 30 нуклеотидных пар — **линкерные участки**, к которым присоединяются молекулы гистона Н1 (рис. 3.3).

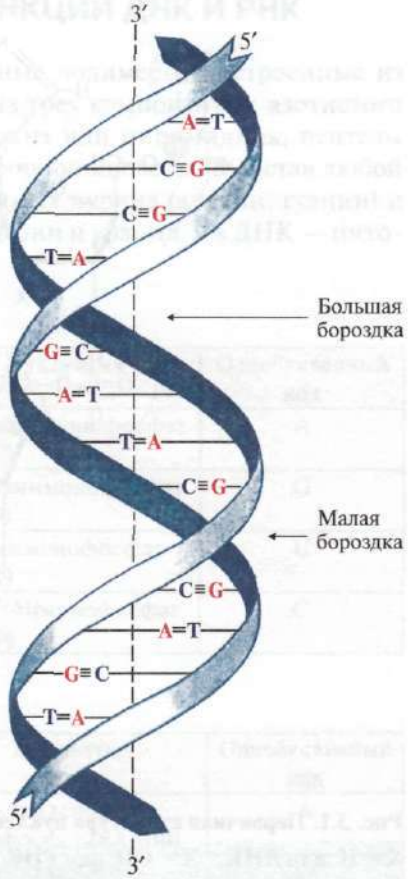


Рис. 3.2. Двойная спираль ДНК.

Аденин и тимин связывают две, а гуанин и цитозин — три водородные связи

Негистоновые белки представлены множеством ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК, РНК, регуляции этих процессов и компактизации ДНК.

3. Пространственная структура РНК. В клетке существует три вида РНК: рибосомная (рРНК), транспортная (тРНК) и матричная (мРНК), каждая из которых выполняет свою особую функцию в синтезе белка.

Вторичная структура РНК формируется в результате спирализации отдельных участков одноцепочечной РНК. В спирализованных участках, или **шпильках**, между комплементарными парами азотистых оснований A и U, G и C возникают водородные связи. Двуцепочечные фрагменты чередуются с неспирализованными участками молекулы, образующими петли.

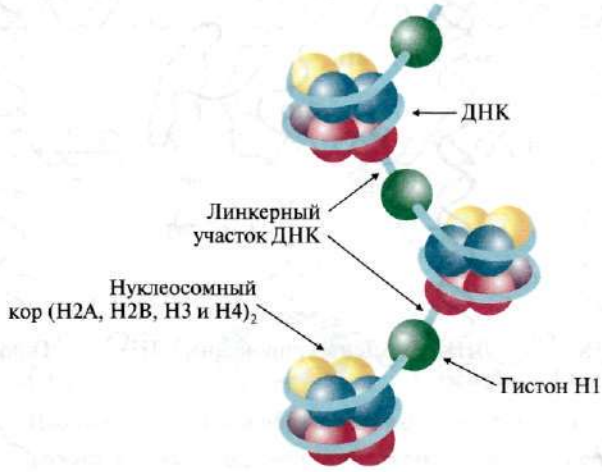


Рис. 3.3. Структура нуклеосом.

Восемь молекул гистонов четырех видов (H2A, H2B, H3 и H4) составляют нуклеосомный кор (ядро), на который наматывается ДНК, образуя примерно два витка

Третичная структура РНК образуется за счет дополнительных водородных связей между нуклеотидами неспирализованных участков, полинуклеотидной цепью рРНК или мРНК и белками, обеспечивает дополнительную компактизацию и стабилизацию пространственной структуры молекулы.

4. Структура молекул **ДНК и РНК** является **видоспецифической характеристикой** организмов. Об этом свидетельствуют эксперименты по гибридизации ДНК—ДНК и ДНК—РНК. При нагревании до 80—90°С нуклеиновые кислоты денатурируют с разрушением пространственной структуры, образуя одноцепочечные молекулы. При медленном охлаждении такие молекулы способны восстанавливать двойную спираль и либо приобретать исходную структуру, либо образовывать гибриды: совершенные или несовершенные в зависимости от комплементарности нитей друг другу по всей длине цепей. На этой способности двух образцов ДНК или ДНК и РНК образовывать гибриды в процессе охлаждения после денатурации основан метод **молекулярной гибридизации.**

Этот метод позволил установить следующие закономерности:

- ДНК всех клеток одного организма идентична, а ДНК разных организмов одного вида обнаруживает очень высокое сходство, обеспечивая образование «совершенных гибридов»;
- ДНК специфична для каждого вида и чем больше филогенетическая дистанция между видами, тем больше различий в строении принадлежащих им ДНК;
- ДНК, выделенная из тканей определенного организма, содержит информацию о структуре всех видов РНК данного организма.

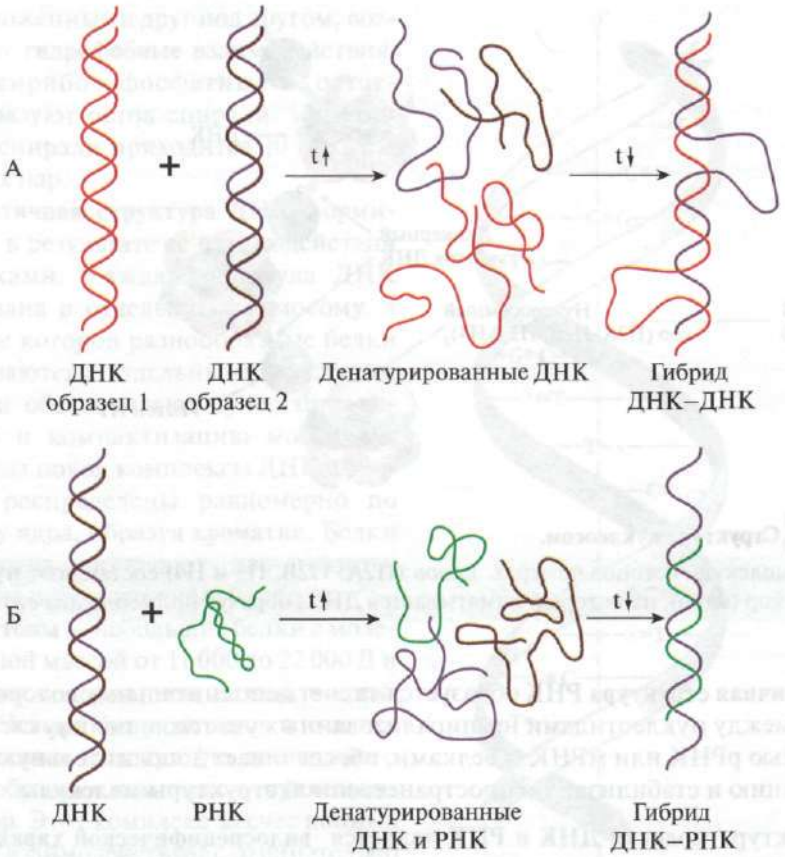


Рис. 3.4. Гибридизация нуклеиновых кислот:
А — гибридизация ДНК–ДНК; Б — гибридизация ДНК–РНК

ТЕМА 3.2. БИОСИНТЕЗ ДНК (РЕПЛИКАЦИЯ)

1. *Репликация* — *матричный процесс. Во время репликации каждая из* двух цепей ДНК служит матрицей для образования новой цепи. Субстратами и источниками энергии для синтеза ДНК являются дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (дНТФ: дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ).

Процесс включает следующие основные этапы.

I. Формирование репликативной вилки.

II. Синтез новых цепей ДНК.

III. Исключение праймеров. Завершение формирования отстающей цепи ДНК.

I. Формирование репликативной вилки (рис. 3.5) идет при участии:

ДНК-топоизомеразы, которая является «обратимой нуклеазой». Сначала фермент разрывает 3′-,5′-фосфодиэфирную связь в одной из цепей ДНК

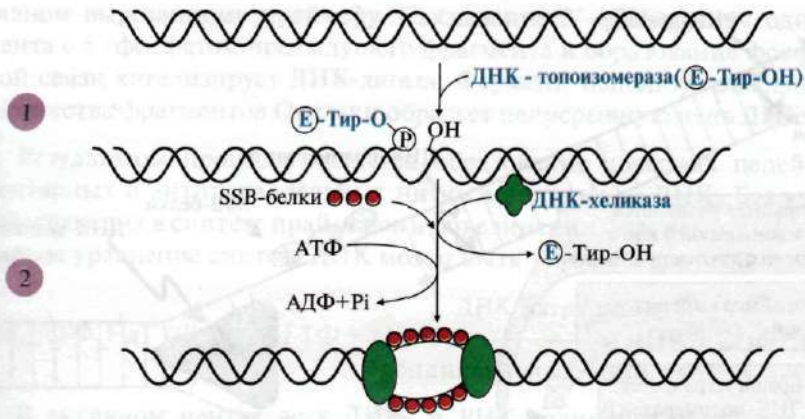


Рис. 3.5 Участие ДНК-топоизомеразы в образовании репликативной вилки.

1 — фермент расщепляет 3′,5′-фосфодиэфирную связь в одной из цепей ДНК и присоединяется к 5′-концу в точке разрыва; 2 — в область разрыва цепи присоединяются две молекулы ДНК-хеликаз и обеспечивают локальное разделение двойной спирали ДНК. ДНК-топоизомераза восстанавливает расщепленную 3′,5′-фосфодиэфирную связь и отделяется, а к одноцепочечным участкам присоединяются SSB белки

и присоединяется к 5′-концу в точке разрыва, вызывая сброс суперспиралей ДНК-хроматина. Это облегчает присоединение в область разрыва цепи двух молекул ДНК-хеликаз и образование репликативной вилки. По окончании формирования репликативной вилки ДНК-топоизомераза восстанавливает целостность молекулы ДНК и отделяется;

ДНК-хеликаз — ДНК-зависимых АТФаз, использующих энергию АТФ для расплетения двойной спирали ДНК;

SSB (single strand binding)-**белков**, связывающихся с одноцепочечными участками ДНК. Эти белки, не закрывая оснований, предотвращают повторное комплементарное скручивание матричных цепей и образование шпилек.

II. Синтез новых цепей ДНК

На этой стадии дочерние нити ДНК образуются на обеих нитях материнской ДНК. Процесс катализирует несколько **ДНК-полимераз**, которые **синтезируют** полинуклеотидные **цепи из дНТФ**: дАТФ, дГТФ, дТТФ и дЦТФ **в направлении от 5′- к 3′-концу** антипараллельно матрице, имеющей направление от 3′- к 5′-концу (рис. 3.6).

Новые цепи синтезируются по-разному. На матрице ДНК с направлением от 3′- к 5′-концу цепь растет непрерывно по ходу движения репликативной вилки и называется **лидирующей**. На матрице с направлением от 3′- к 5′-концу вторая цепь синтезируется против движения репликативной вилки в виде коротких отрезков — **фрагментов Оказаки**. Рост этой цепи начинается только тогда, когда на матрице ДНК появляется одноцепочечный участок длиной около 200 нуклеотидов, поэтому ее называют **запаздывающей** или **отстающей**.

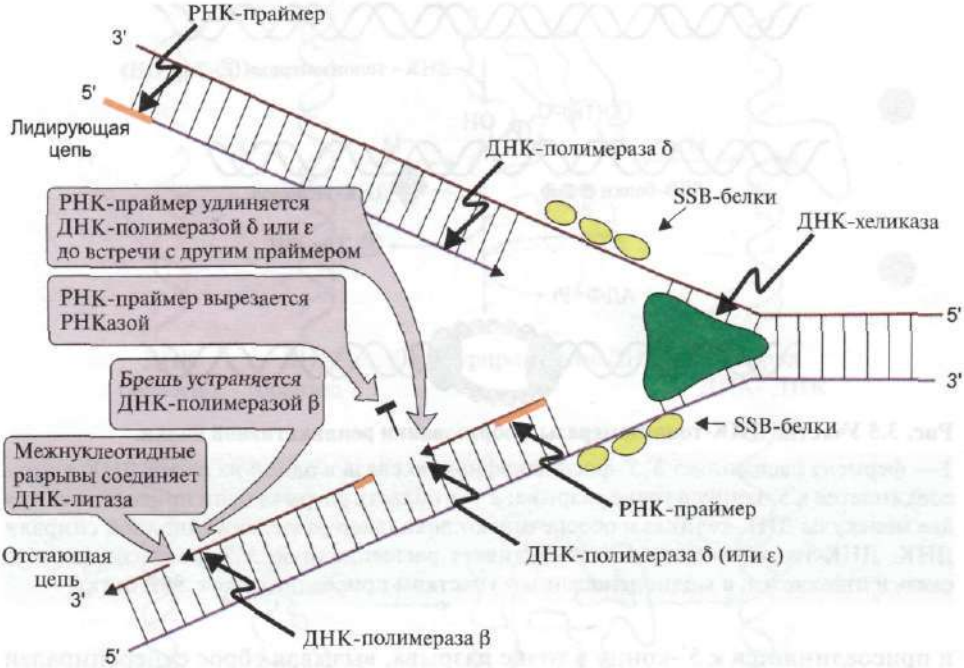


Рис. 3.6. Рост новых цепей в области репликативной вилки.

Лидирующая нить растет непрерывно, а отстающая — в виде фрагментов Оказаки, каждый из которых включает:
— РНК-праймер (~10 нуклеотидов);
— участок ДНК, примерно равный длине цепи из 150 нуклеотидов

ДНК-полимеразы δ, β и **ε** не способны инициировать синтез новых цепей ДНК, они могут лишь удлинять имеющуюся нуклеотидную цепь. Синтез лидирующей и отстающей нитей начинается с образования затравки или **праймера**-олигорибонуклеотида (РНК), включающего около 10 мононуклеотидов. Его образование катализирует **праймаза — субъединица *ДНК-полимеразы α.*** *Далее этот же фермент, используя в качестве субстратов* дНТФ, переключается на образование ДНК и включает во вновь синтезируемую нить 20—50 дезоксирибонуклеотидов, после чего заменяется другими ДНК-полимеразами. Синтез лидирующей цепи продолжает **ДНК-полимераза δ,** а отстающей — **ДНК-полимераза δ** или **ε**. Оба фермента, помимо, полимеразной обладают еще и экзонуклеазной активностью. В ходе синтеза они могут исправлять допущенную ошибку и отщеплять неправильно включенный нуклеотид, что обеспечивает высокую точность синтеза ДНК.

III. Исключение праймеров. Завершение формирования отстающей цепи ДНК

В отстающей нити праймер удаляется **эндонуклеазой** или **РНКазой**. Затем **ДНК-полимераза β** заполняет образованную «брешь», присоединяя по принципу комплементарности матрице дезоксирибонуклеотиды в количестве,

равном вырезанному праймеру. Связывание 3′—ОН-группы одного фрагмента с 5′-фосфатом предыдущего фрагмента и образование фосфодиэфирной связи катализирует **ДНК-лигаза**. Фермент, используя энергию АТФ, из множества фрагментов Оказаки образует непрерывную цепь ДНК.

2. Результатом процесса является образование дочерних цепей, комплементарных и антипараллельных нитям материнской ДНК. Без учета НТФ, участвующих в синтезе праймеров и объединении фрагментов Оказаки, суммарное уравнение синтеза ДНК может быть записано следующим образом:

$$m\,(\text{дАТФ} + \text{дТТФ}) + n\,(\text{дГТФ} + \text{дЦТФ}) \xrightarrow[\text{репликативный комплекс}]{\text{ДНК-матрица, } Mg^{2+}} \text{ДНК} + 2\,(m + n)\,H_4P_2O_7.$$

В активном центре всех ДНК- и РНК-полимераз находится ион Zn^{2+} (кофактор фермента). Для взаимодействия полимераз с субстратами необходимо также присутствие ионов Mg^{2+}, которые образуют с нуклеотидами комплексы и повышают их реакционную способность.

3. Молекула ДНК человека имеет очень большие размеры, поэтому инициация синтеза ДНК происходит в нескольких точках хромосомы, которые называются точками инициации репликации, или **ориджинами («origin») репликации** (рис. 3.7). Ориджины репликации имеют специфическую нуклеотидную последовательность.

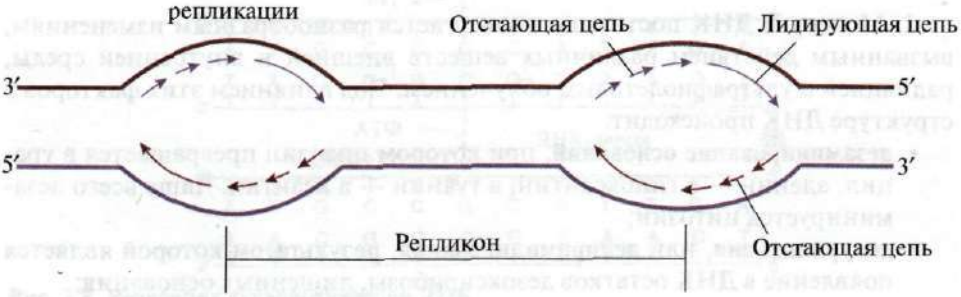


Рис. 3.7. Образование репликативных вилок, перемещающихся в противоположных направлениях от ориджина.

Синтез начинается в области ориджина и идет в противоположных направлениях. В каждом ориджине образуется две репликативные вилки. Процесс полуконсервативный, и каждая дочерняя молекула ДНК получает одну родительскую и одну вновь синтезированную нить

Единица репликации у эукариотов называется **репликоном** — это участок ДНК между соседними ориджинами. На ориджинах инициируется двунаправленная репликация, т.е. образуются две репликативные вилки, перемещающиеся в противоположных направлениях, до тех пор пока не встретятся со следующим репликоном.

4. По завершении репликации образуется тетраплоидный набор молекул двухспиральной ДНК, каждая из которых содержит одну «материнскую» нить и одну «дочернюю» — вновь синтезированную (**полуконсервативный механизм** образования новых молекул ДНК). В результате митоза дочерняя клетка получает диплоидный набор хромосом, идентичный материнской клетке. Таким образом, репликация обеспечивает воспроизведение генотипа в новых поколениях.

5. Репликация происходит в S-фазу клеточного цикла. В регуляции клеточного цикла участвуют белки **циклины**. Различают циклины A, B, D, E. Циклины являются активаторами **циклин-зависимых протеинкиназ**, которые в активной форме могут фосфорилировать специфические белки, участвующие в подготовке и продвижении клетки по клеточному циклу. В каждом цикле концентрация циклинов постепенно возрастает от нуля, а затем резко падает опять до нуля.

Таблица 3.3. Циклины, регулирующие прохождение клеточного цикла

Циклин	Функция
D	Регулируют переход клетки из G1-фазы в фазу S
E, A	Активируют синтез ДНК на начальной стадии S-фазы
B	Регулируют переход клетки из G2-фазы в M-фазу

ТЕМА 3.3. РЕПАРАЦИЯ ОШИБОК И ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК

1. Молекула ДНК постоянно подвергается разнообразным изменениям, вызванным действием различных веществ внешней и внутренней среды, радиацией и ультрафиолетовым облучением. Под влиянием этих факторов в структуре ДНК происходит:

- **дезаминирование оснований**, при котором цитозин превращается в урацил, аденин — в гипоксантин, а гуанин — в ксантин. Чаще всего дезаминируется цитозин;
- **депуринизация**, или **депиримидинизация**, результатом которой является появление в ДНК остатков дезоксирибозы, лишенных основания;
- образование под действием ультрафиолета (УФО) **пиримидиновых димеров** между рядом расположенными в цепи основаниями;
- **разрыв нуклеотидных цепей**;
- *появление* ***ковалентных сшивок*** *между цепями или цепями и гистонами*;
- возникновение **ошибок репликации**;
- образование **продуктов алкилирования ДНК** (6-метилгуанина, 7-метилгуанина, 3-метиладенина) под воздействием некоторых химических веществ.

2. Поврежденные основания ДНК обнаруживаются и удаляются **ДНК-N-гликозилазами**. Ферменты гидролитически расщепляют N-гликозидную связь между поврежденным основанием и остатком дезоксирибозы. Участки на молекуле ДНК, лишенные азотистого основания, получили название **АП-сайтов** (от англ. «apurinic» — apyrimidinic site). АП-сайты могут также

возникать в результате самопроизвольного гидролитического отщепления пуриновых или пиримидиновых оснований. Дальнейший ход репарации идет по одному из двух путей:

- либо фермент **ДНК-инсертаза** может присоединять к дезоксирибозе основание в соответствии с правилом комплементарности;
- либо **эндонуклеаза** определяет место повреждения (если это дезоксирибоза, лишенная основания, то фермент называют АП-эндонуклеазой) и гидролизует 3′, 5′-фосфодиэфирную связь (рис. 3.8).

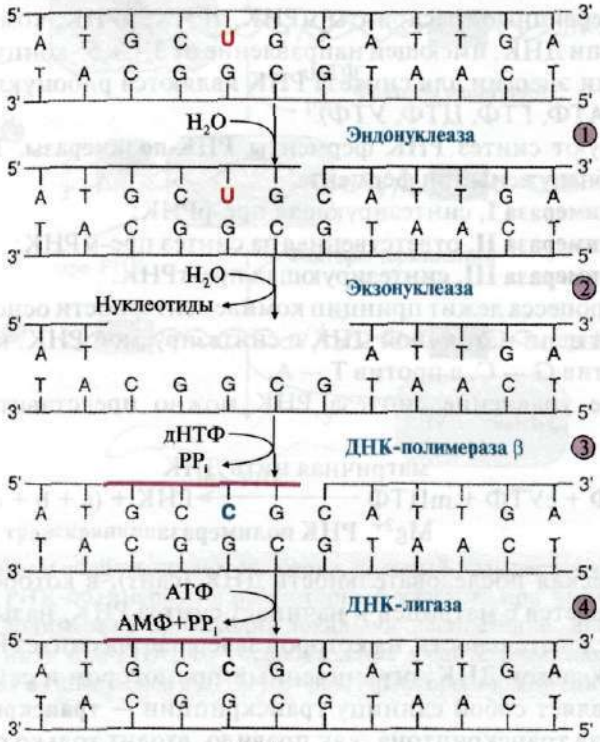


Рис. 3.8. Репарация эукариотической ДНК

Экзонуклеаза находит место разрыва цепи и удаляет поврежденный участок. **ДНК-полимераза β** присоединяется к 3′-концу образовавшейся «бреши» и достраивает недостающий участок цепи (ликвидирует «брешь»). Матрицей служит неповрежденная цепь ДНК.

ДНК-лигаза соединяет неповрежденный и вновь синтезированный участки цепи ДНК.

3. Репарация возможна благодаря существованию двух цепей в молекуле ДНК — двух копий генетической информации. Если одновременно повреждается комплементарная пара нуклеотидов, репарация в гаплоидных клетках невозможна, а в диплоидных может идти за счет присутствия идентичного гена в гомологичной хромосоме.

Репарация необходима для сохранения генетического материала на протяжении всей **жизни организма** (сохранение структуры генома). Все ферменты *постоянно активны и процесс идет непрерывно. Снижение активности ферментов* репарации приводит к накоплению повреждений (мутаций) в ДНК.

ТЕМА 3.4. БИОСИНТЕЗ РНК (ТРАНСКРИПЦИЯ). ПОСТТРАНСКРИПЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ РНК

1. Транскрипцией называется **синтез РНК** на **ДНК-матрице.** В результате образуются первичные траскрипты мРНК, тРНК, рРНК, комплементарные матричной цепи ДНК, имеющей направление от 3′-, к 5′-концу. Субстратами и источниками энергии для синтеза РНК являются рибонуклеозидтрифосфаты (НТФ: АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ).

Катализируют синтез РНК ферменты **РНК-полимеразы**. В ядре клеток эукариотов обнаружены три фермента:

- РНК-**полимераза I**, синтезирующая пре-рРНК;
- РНК-**полимераза II**, ответственная за синтез пре-мРНК;
- *РНК-**полимераза III**, синтезирующая пре-тРНК.*

В основе процесса лежит принцип комплементарности оснований в полинуклеотидной цепи матричной ДНК и синтезируемой РНК, когда против А встает U, против G — C, а против T — A.

Суммарное уравнение синтеза РНК можно представить следующим образом:

$$aГТФ + bАТФ + cУТФ + mЦТФ \xrightarrow[Mg^{2+},\ \textbf{РНК полимераза}]{\text{матричная нить ДНК}} РНК + (a + b + c + m)\ H_4P_2O_7.$$

2. Специфическая последовательность ДНК (сайт), в которой РНК-полимераза связывается с матрицей и начинает синтез РНК, называется **промотором**, а последовательность, на которой завершается синтез РНК, — **сайтом терминации.** Участок ДНК, ограниченный промотором и сайтом терминации, представляет собой единицу транскрипции — **транскриптон**. У эукариотов в состав транскриптона, как правило, входит только один ген.

Существование на молекуле ДНК множества транскриптонов позволяет с разной активностью проводить индивидуальное считывание (транскрипцию) разных генов. РНК-полимеразы — большие, олигомерные ферменты, состоящие из нескольких субъединиц и имеющие несколько центров связывания регуляторных факторов. В процессе транскрипции различают стадии **инициации, элонгации и терминации** (рис. 3.9).

3. «Активация» промотора происходит с помощью белка, который получил название **ТАТА-фактора**, потому что он взаимодействует со специфической последовательностью нуклеотидов промотора -ТАТА-. **ТАТА-фактор облегчает взаимодействие промотора с РНК-полимеразой**. Связывание РНК-полимеразы с промотором увеличивает сродство фермента к **факторам инициации** (A, B), которые обеспечивают раскручивание примерно одного витка двойной спирали ДНК.

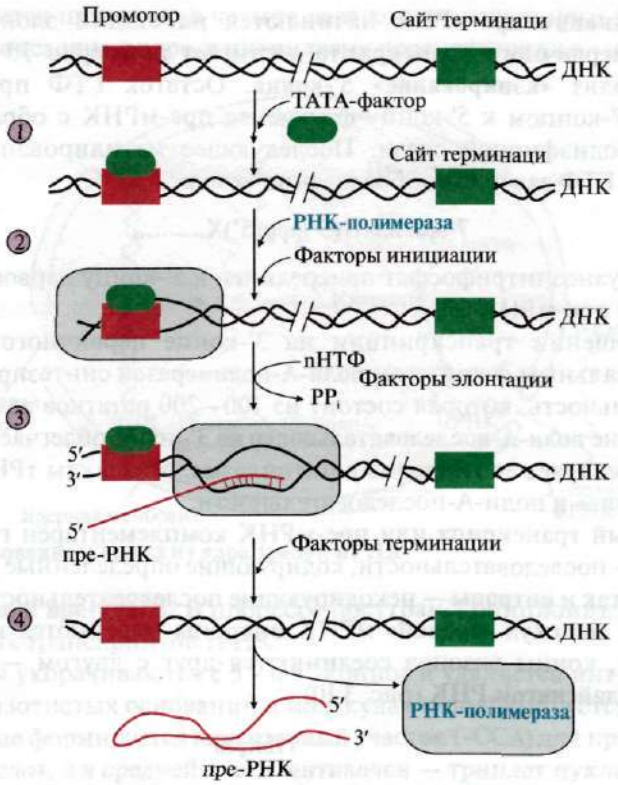


Рис. 3.9. Стадии транскрипции:

1 — присоединение в область промотора белка, который называется «ТАТА-фактор»; 2 — включение РНК-полимеразы в промоторный участок, при этом в зоне присоединения РНК-полимеразы происходит локальное расплетение двойной спирали ДНК; 3 — рост нити пре-РНК; 4 — освобождение в сайте терминации пре-РНК и РНК-полимеразы из комплекса с ДНК ускоряют факторы терминации

Факторы элонгации (E, H, F) повышают активность РНК-полимеразы и облегчают локальное расхождение нуклеотидных цепей. **Синтез молекулы РНК идет от 5′- к 3′-концу на матричной цепи ДНК по принципу комплементарности и антипараллельности**. По мере продвижения РНК-полимеразы по цепи ДНК в направлении от 3′- к 5′-концу впереди нее происходит расхождение, а позади — восстановление двойной спирали.

Расхождение двойной спирали ДНК в области сайта терминации делает его доступным для **факторов терминации**. Когда РНК-полимераза достигает сайта терминации, транскрипция прекращается. Факторы терминации облегчают отделение первичного транскрипта от матрицы.

4. Посттранскрипционные модификации. Прежде чем выйти из ядра, каждый первичный транскрипт после ряда ковалентных модификаций превращается в «зрелую» молекулу РНК.

- **Модификации пре-мРНК** начинаются на стадии элонгации. Когда длина первичного транскрипта достигает примерно 30 нуклеотидов, происходит **«кэпирование» 5′-конца**. Остаток ГТФ присоединяется своим 5′-концом к 5′-концу фрагмента пре-мРНК с образованием 5′-, 5′-фосфодиэфирной связи. Последующее метилирование гуанина в составе ГТФ завершает образование «кэпа»:

7-метил-G(5')ppp(5')X.....,

где 7-метилгуанозинтрифосфат присоединен к 5′-концу первого нуклеотида (X) в составе пре-мРНК.

По завершении транскрипции на 3′-конце первичного транскрипта мРНК специальным ферментом **поли-А-полимеразой** синтезируется поли-А-последовательность, которая состоит из 100—200 остатков адениловой кислоты. Наличие **поли-А-последовательности на 3′-конце** облегчает выход мРНК из ядра и замедляет ее гидролиз в цитоплазме. Молекулы тРНК и рРНК не содержат «кэпа» и поли-А-последовательности.

Первичный транскрипт или пре-мРНК комплементарен гену, содержит как **экзоны** — последовательности, кодирующие определенные участки молекулы белка, так и **интроны** — некодирующие последовательности. В процессе образования молекул «зрелой» мРНК интроны вырезаются из первичного транскрипта, концы экзонов соединяются друг с другом — эту реакцию называют **сплайсингом РНК** (рис. 3.10).

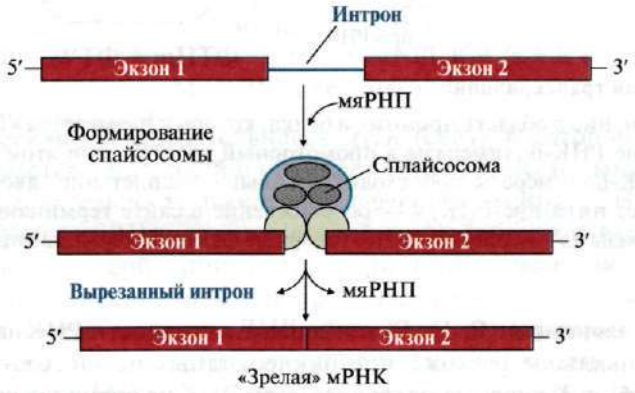


Рис. 3.10. Сплайсинг пре-мРНК

Процесс вырезания интронов протекает при участии малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП), которые образуют комплексы — **сплайсосомы**. мяРНП состоят из малой ядерной РНК (мяРНК), связанной с белковым остовом, в который входит несколько протомеров. Отдельные мяРНП по принципу комплементарности узнают специфические последовательности интронов в первичном транскрипте, они катализируют реакцию расщепления 3′, 5′-фосфодиэфирной связи на границе экзона с интроном и последующее соединение двух экзонов. После завершения сплайсинга «зрелая»

мРНК становится примерно в четыре раза короче первичного транскрипта. Сплайсинг происходит в ядре, в цитоплазму переносится уже «зрелая» мРНК (рис. 3.11).

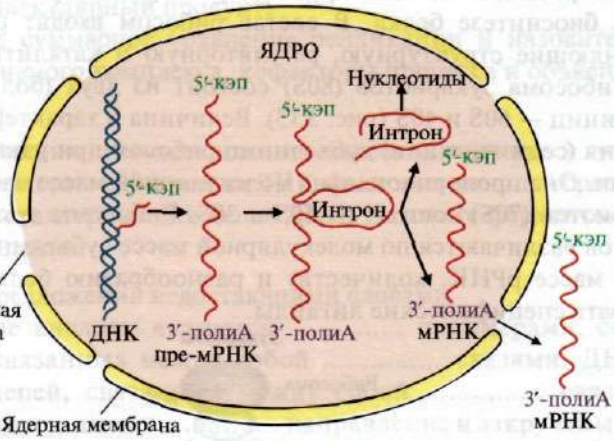


Рис. 3.11. Образование и выход из ядра зрелой мРНК

Модификации пре-тРНК. В процессе посттранскрипционных модификаций первичных транскриптов тРНК:

- молекулы укорачиваются с 5′- и 3′-концов и удаляется интрон;
- 10—15% азотистых оснований в молекулах модифицируется;
- на 3′-конце формируется **акцепторный участок (-ССА)** для присоединения аминокислот, а в средней части **антикодон** — триплет нуклеотидов, обеспечивающий взаимодействие тРНК с кодоном мРНК (рис. 3.12).

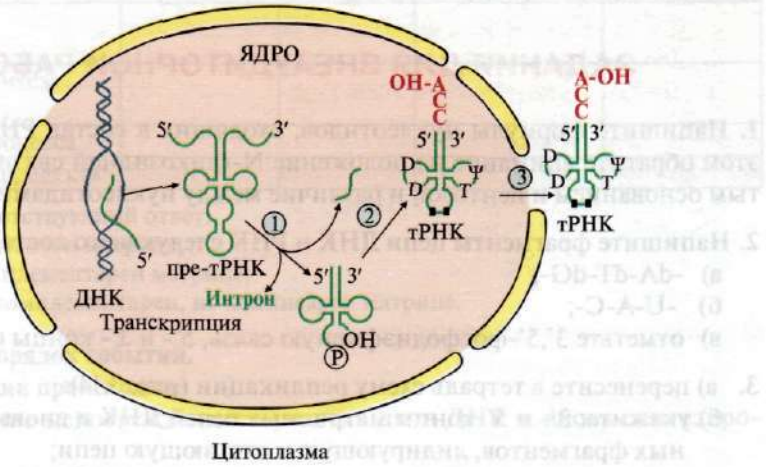


Рис. 3.12. Посттранскрипционные модификации пре-тРНК:

1 — удаляются участки полинуклеотидной цепи на 5′- и 3′-концах молекулы пре-тРНК и интрон в центральной области молекулы; 2 — модифицируются азотистые основания (▪), к 3′-концу присоединяется триплет-ССА; 3 — в цитоплазму выходят зрелые тРНК

- **Посттранскрипционные модификации пре-рРНК** сопровождаются образованием из высокомолекулярного предшественника 28S, 18S и 5,8S *«зрелых» рРНК, входящих в рибосому — органеллу клетки, участвующую* в биосинтезе белка. В состав рибосом входят рРНК и белки, выполняющие структурную, регуляторную и каталитическую функции. Рибосома эукариотов (80S) состоит из двух (большой и малой) субъединиц — 60S и 40S (рис. 3.13). Величина S характеризует скорость оседания (седиментации) субъединиц рибосом при ультрацентрифугировании. Она пропорциональна молекулярной массе частиц. Рибосома прокариотов (70S) состоит из 50S и 30S. Рибосомы эукариотов и прокариотов различаются по молекулярной массе субъединиц, количеству рРНК, массе рРНК, количеству и разнообразию белков, способных связывать специфические лиганды.

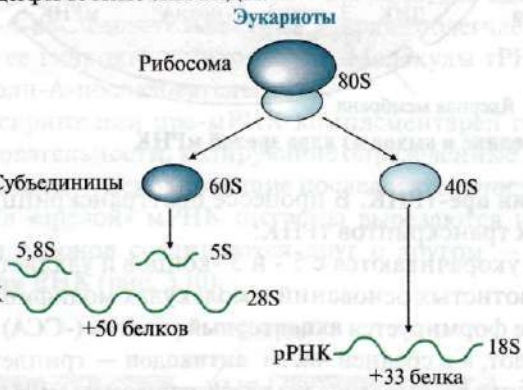


Рис. 3.13. Строение эукариотических рибосом

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Напишите формулы нуклеотидов, входящих в состав РНК и ДНК. При этом обратите внимание на положение N-гликозидной связи между азотистым основанием и пентозой и различие между нуклеотидами РНК и ДНК.

2. Напишите фрагменты цепи ДНК и РНК следующего состава:

а) -dA-dT-dG-;

б) -U-A-C-;

в) отметьте 3′,5′-фосфодиэфирную связь, 5′- и 3′- концы фрагментов.

3. а) перенесите в тетрадь схему репликации (рис. 3.14):

б) укажите: 3′- и 5′-концы матричных цепей ДНК и вновь синтезированных фрагментов, лидирующую и отстающую цепи;

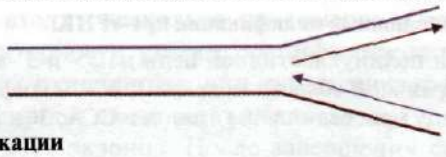


Рис. 3.14. Схема репликации

в) на отдельном рисунке изобразите, как идет синтез высокомолекулярного фрагмента на отстающей цепи ДНК. Перечислите ферменты, участвующие в образовании фрагментов Оказаки и их связывании в высокомолекулярный продукт;

г) напишите суммарное уравнение репликации и назовите ферменты репликативного комплекса, кофакторы процесса и объясните их роль в синтезе.

4. Напишите реакции дезаминирования цитозина, аденина и гуанина, происходящие в результате действия на ДНК-факторов внешней среды. Укажите основания, не характерные для цепей ДНК. Назовите ферменты, устраняющие эти повреждения.

5. Дополните предложения недостающими словами.

Нуклеиновые кислоты являются ..... полимерами, состоящими из ....., связанных между собой ..... связями. ДНК состоит из ..... цепей, связанных между собой ..... связями. Нити .....друг другу, имеют ..... направление и закручены в ..... спираль.

6. Перенесите в тетрадь табл. 3.4 и заполните графы I, II, III.

Таблица 3.4. Матричные процессы

Процесс	Репликация I	Репарация II	Транскрипция III	Трансляция IV
Матрица				
Субстраты				
Источники энергии				
Ферменты Кофакторы				
Направление синтеза новых цепей				
Локализация процесса				
Характеристика продукта*				

*Выберите соответствующий ответ:

А — продукт идентичен матрице;

В — продукт комплементарен матрице;

С — продукт не комплементарен, но колинеарен матрице.

7. Установите порядок событий.

При репарации происходит:

А. Соединение неповрежденного участка цепи ДНК и вновь синтезированного

Б. Удаление поврежденного участка

В. Определение места повреждения

Г. Достройка поврежденной цепи

Д. Присоединение ДНК-полимеразы β к 3′-концу поврежденной цепи

8. Выберите правильные ответы.

Ферментами репарации устраняются:

А. Дезаминированные нуклеотиды

Б. Димеры тимина

В. Комплементарные пары поврежденных нуклеотидов

Г. Ацилированные нуклеотиды

Д. Продукты депуринизации нуклеотидов

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Установите соответствие.

А. Репликация

Б. Репарация

В. Транскрипция

Г. Созревание пре-тРНК

Д. Сплайсинг

1. Приводит к образованию молекул, содержащих до 15% модифицированных азотистых оснований
2. Синтезирует продукт, идентичный матрице
3. Обеспечивает образование зрелых мРНК

2. Установите порядок событий.

В процессе синтеза отстающей цепи ДНК:

А. ДНК-лигаза устраняет разрывы между предыдущим и последующим фрагментами Оказаки

Б. ДНК-полимераза α синтезирует РНК-праймер и небольшой участок молекулы ДНК

В. ДНК-полимераза β устраняет брешь между предыдущим и вновь синтезированным фрагментом Оказаки

Г. ДНК-полимераза δ или ε удлиняет нить в направлении от 5′- к 3′-концу

Д. Праймеры вырезаются РНКазой

3. Выполните «цепное» задание:

а) в ходе репликации матрицей для синтеза новых молекул ДНК служат:

А. Неповрежденная нить ДНК

Б. мРНК

В. Обе нити ДНК

Г. тРНК

б) на этапе инициации эта нуклеиновая кислота связывается с:

А. ДНК-полимеразой α

Б. SSB-белками

В. РНК-полимеразой

Г. ДНК- топоизомеразой

в) с помощью выбранного компонента происходит:

А. Гидролиз 3′,5′-фосфодиэфирной связи в одной из цепей ДНК

Б. Синтез олигорибонуклеотида

В. Удлинение новых цепей ДНК

г) к полученному продукту присоединяется:

А. ДНК-полимераза β
Б. ДНК-полимераза δ
В. ДНК-хеликаза
Г. ДНК-лигаза

д) фермент катализирует:

А. Расплетение двойной спирали ДНК за счет энергии АТФ
Б. Удлинение нити ДНК
В. Соединение фрагментов Оказаки
Г. Заполнение бреши между двумя фрагментами ДНК

е) это обеспечивает:

А. Образование высокомолекулярного продукта
Б. Присоединение ДНК-полимеразы α
В. Комплементарное взаимодействие матрицы и продукта
Г. Рост лидирующей цепи ДНК

4. Установите соответствие.

А. ДНК-полимераза β
Б. ДНК-лигаза
В. Эндонуклеаза
Г. ДНК-N-гликозилаза
Д. ДНК-инсертаза

1. Устраняет «брешь» на поврежденной нуклеотидной цепи
2. Гидролитически удаляет поврежденное основание
3. *Катализирует образование N-гликозидной связи*

5. Выполните «цепное» задание:

а) в процессе синтеза РНК активация промотора происходит с помощью:

А. РНК-полимеразы
Б. Фактора терминации
В. ТАТА-фактора
Г. Фактора элонгации

б) присоединение этого вещества облегчает взаимодействие промотора с:

А. ДНК-полимеразой
Б. РНК-полимеразой
В. ДНК-лигазой
Г. ДНК-хеликазой

в) активность выбранного фермента повышается при взаимодействии с:

А. РНК-праймером
Б. мяРНП
В. Факторами элонгации
Г. Факторами терминации

г) взаимодействие фермента с выбранным в пункте «в» компонентом:

А. Изменяет стабильность РНК
Б. Устраняет интроны из первичного транскрипта
В. Облегчает расхождение цепей ДНК-матрицы и синтез продукта
Г. Ускоряется отделение первичного транскрипта от матрицы

д) этот процесс использует в качестве источников энергии и субстратов:

А. АТФ

Б. ГТФ

В. 4 × НТФ

Г. 4 × дНТФ

е) эти нуклеотиды обеспечивают рост цепи (выберите правильные ответы):

А. От 5'- к 3'-концу

Б. От 3'- к 5'-концу

В. Антипараллельно матрице

Г. Параллельно матрице

6. Установите соответствие.

Ферменты репликации:

А. ДНК-полимераза δ

Б. РНКаза

В. ДНК-лигаза

Г. ДНК-полимераза β

Д. ДНК-полимераза α

Функции:

1. Связывает фрагменты Оказаки друг с другом
2. Синтезирует РНК-праймер
3. Катализирует синтез лидирующей цепи ДНК

7. Установите соответствие.

Ферменты репарации:

А. Эндонуклеаза

Б. Экзонуклеаза

В. Инсертаза

Г. ДНК-полимераза β

Д. ДНК-N-гликозилаза

Функции:

1. Расщепляет связь между поврежденным азотистым основанием и пентозой
2. *Гидролизует 3'- ,5'-фосфодиэфирную связь в поврежденной цепи* ДНК
3. Присоединяет азотистое основание к АП-сайту в цепи ДНК

8. Установите соответствие.

А. Пре-тРНК

Б. тРНК

В. рРНК

Г. мРНК

Д. мяРНК

1. Содержит специфическую последовательность –ССА на 3'-конце
2. Имеет «кэп» на 5'-конце
3. Входит в состав сплайсосом

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. 1—Г, 2—А, 3—Д
2. Б→Г→Д→В→А
3. а) В, б) Г, в) А, г) В, д) А, е) Б
4. 1—А, 2—Г, 3—Д
5. а) В, б) Б, в) В, г) В, д) В, е) А, В
6. 1—В, 2—Д, 3—А
7. 1—Д, 2—А, 3—В
8. 1—Б, 2—Г, 3—Д

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Нуклеозиды, нуклеотиды.
2. Первичная структура нуклеиновых кислот.
3. Двойная спираль ДНК. Особенности строения.
4. Гистоны и их роль в формировании третичной структуры ДНК.
5. Нуклеосомы.
6. Строение и функции мРНК, тРНК и рРНК.
7. Метод молекулярной гибридизации.
8. Репликация.
9. Репарация.
10. Транскрипция, посттранскрипционные модификации РНК.
11. мяРНП, сплайсосомы.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. В биохимической лаборатории имелись три пробирки с ДНК, выделенной из печени мыши, мышц мыши и печени лошади. В процессе хранения надписи на пробирках стерлись. Объясните, как экспериментатору, используя метод молекулярной гибридизации, удалось установить, из ткани какого животного была выделена ДНК. Для этого составьте схему экспериментов, которые нужно было провести ученому.

2. Операции частичной гепатоэктомии (удаление части органа), осуществляющиеся при опухолевом поражении печени или травмах, стимулируют рост и деление клеток в сохранной части органа вплоть до восстановления первичного объема. Опишите процесс, стимулирующий увеличение числа гепатоцитов. Для этого:

а) изобразите его схему;
б) укажите субстраты, ферменты, источники энергии, кофермент;
в) перечислите основные белки, которые участвуют в регуляции клеточного цикла и их роль в подготовке к делению.

3. В процессе дифференцировки кроветворных клеток на стадии ретикулоцитов идет активный синтез α- и β-цепей глобина. Опишите механизм, обеспечивающий клетки матрицами для синтеза этих цепей. Для этого:

а) изобразите схему, отражающую синтез матрицы, содержащей информацию о структуре белковых цепей Hb;

б) укажите субстраты, фермент, источники энергии, кофермент и напишите суммарное уравнение процесса;

в) на схеме покажите модификации, которым подвергается продукт реакции, прежде чем он станет зрелой матрицей для синтеза полипептидных цепей.

4. В последнее время все большее число молодежи посещает солярии, аргументируя свои действия тем, что солнечный свет полезен для здоровья. Многие из них даже не догадываются, к каким последствиям может привести УФО при чрезмерном увлечении солнечными ваннами. Укажите, какие повреждения в ДНК фибробластов кожи может вызывать УФ-облучение и как они устраняются в норме. Для этого:

а) напишите схему процесса, который обеспечивает восстановление нативной структуры ДНК;

б) назовите заболевания, которые могут возникнуть у пациентов с недостаточностью ферментов этого процесса.

5. Некоторые химические вещества способны алкилировать ДНК, включая метильные группы в азотистые основания пуриновых нуклеотидов с образованием 7-метилгуанина, 6-метилгуанина, 3-метиладенина. Объясните с помощью каких механизмов в норме удаляются эти повреждения в молекуле ДНК. С этой целью:

а) представьте универсальный и вспомогательные механизмы, обеспечивающие восстановление нативной структуры ДНК;

б) укажите матрицу, субстраты, ферменты этого процесса;

в) объясните биологическое значение этих механизмов.

Модульная единица 2
БИОСИНТЕЗ БЕЛКОВ. ИНГИБИТОРЫ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ. МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ

Цели изучения

Уметь:

1. Использовать знания об основных этапах биосинтеза белков для объяснения механизмов трансформации генетической информации в фенотипические признаки.
2. Интерпретировать действие интерферонов, антибиотиков, ядов, токсинов и некоторых лекарственных препаратов как ингибиторов матричных биосинтезов.
3. Объяснять адаптацию организмов к меняющимся условиям среды как результат регуляции скорости биосинтеза белков.

Знать:

1. Основные этапы биосинтеза и посттрансляционных модификаций белков.
2. Примеры лекарств — ингибиторов матричных биосинтезов и механизмы их действия.
3. Основы регуляции экспрессии генов у прокариотов.
4. *Особенности адаптивной регуляции биосинтеза белков у эукариотов.*

ТЕМА 3.5. ТРАНСЛЯЦИЯ КАК МЕХАНИЗМ ПЕРЕВОДА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ В ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ

Синтез белка отличается от других матричных биосинтезов тем, что между матрицей (мРНК) и продуктом-белком нет комплементарного соответствия. Поскольку матрица построена из 4 нуклеотидов, а продукт — полипептидная цепь из 20 аминокислот, то существует определенный закон шифрования аминокислот в нуклеотидной последовательности матрицы, т.е. биологический код.

1. Биологический код — это способ записи информации об аминокислотной последовательности белков с помощью последовательности нуклеотидов в ДНК или РНК. Его характеризуют следующие свойства: **триплетность и наличие терминирующих кодонов, специфичность, вырожденность, универсальность, однонаправленность, колинеарность** (табл. 3.5).

Таблица 3.5. Свойства биологического кода

Триплетность и наличие терминирующих кодонов	Кодовое число равно 3. Три нуклеотидных остатка (триплет) кодируют одну аминокислоту. Терминирующие триплеты — UAA, UAG, UGA не кодируют аминокислот, а являются сигналами к прекращению синтеза белка
Специфичность	Каждый триплет кодирует только одну аминокислоту
Вырожденность	Одну аминокислоту могут кодировать несколько триплетов (от 2 до 6)
Универсальность	Почти у всех видов организмов биологический код одинаков
Однонаправленность	Информация, записанная в зрелой мРНК в виде линейной последовательности кодонов (триплетов), считывается в направлении от 5'- к 3'-концу
Колинеарность	Последовательность кодонов в зрелой мРНК соответствует последовательности аминокислот в синтезированном белке

2. Основными компонентами синтеза белка являются: аминокислоты, тРНК, аминоацил-тРНК-синтетазы, мРНК, рибосомы, источники энергии, белки — факторы инициации, элонгации и терминации и кофакторы (табл. 3.6).

Таблица 3.6. Основные компоненты белок-синтезирующей системы и их функции в процессе трансляции

Необходимые компоненты	Функции
1. Аминокислоты	Субстраты для синтеза белков
2. тРНК	Выполняют функцию адапторов — приспособителей аминокислот к кодонам мРНК. Акцепторным концом (—ССА) они взаимодействуют с аминокислотами, а антикодоном — с кодоном мРНК
3. Аминоацил-тРНК-синтетазы	Каждый фермент катализирует реакцию специфического связывания 1 из 20 аминокислот с соответствующей тРНК
4. мРНК	Матрица содержит линейную последовательность кодонов, определяющих первичную структуру белков
5. Рибосомы	Рибонуклеопротеиновые субклеточные структуры, являющиеся местом синтеза белков
6. АТФ, ГТФ	Источники энергии
7. Белковые факторы инициации (IF), элонгации (EF), терминации (RF)	Специфические внерибосомные белки, необходимые для процесса трансляции
8. Ионы магния	Кофактор, стабилизирующий структуру рибосом

Аминоацил-тРНК-синтетазы катализируют синтез аминоацил-тРНК — соединений, которые обеспечивают включение аминокислот в полипептидную цепь. Они обладают абсолютной специфичностью к аминокислоте и относительной к тРНК, так как в связи с вырожденностью кода разных типов тРНК больше, чем аминокислот. Существуют изоакцепторные тРНК, отличающиеся по строению антикодона, но связывающиеся с одной и той же

аминокислотой. Указанием на способность тРНК присоединять определенную аминокислоту служит индекс в верхнем правом углу: тРНК, связывающаяся с глутаматом, обозначается как тРНК^{Глу}, а с аланином — тРНК^{Ала}. Название каждой из 20 аминоацил-тРНК-синтетаз отражает *название аминокислоты, которая активируется в ходе этой реакции.* Так, реакцию активации аспартата катализирует аспарагил-тРНК-синтетаза, которая присоединяет α-COOH-группу аминокислоты к 3′—OH концу тРНК за счет энергии АТФ (рис. 3.15).

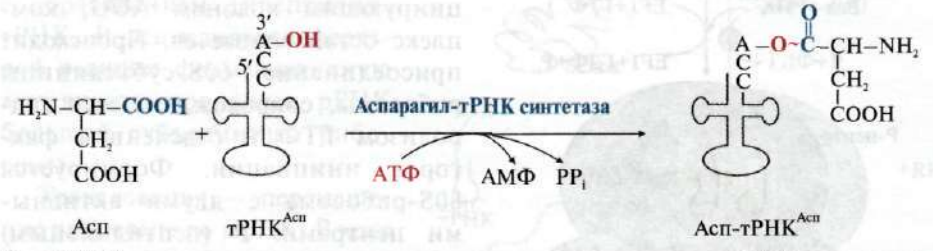


Рис. 3.15. Реакция активации аспартата, катализируемая аспарагил-тРНК-синтетазой

3. События на рибосоме включают этапы: инициации, элонгации и терминации (рис. 3.16).

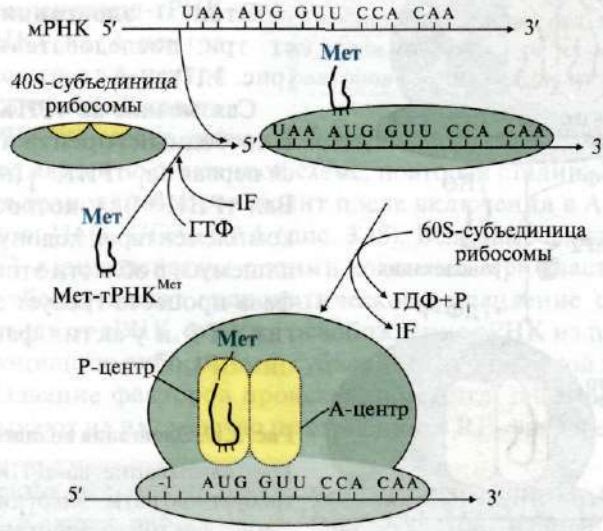
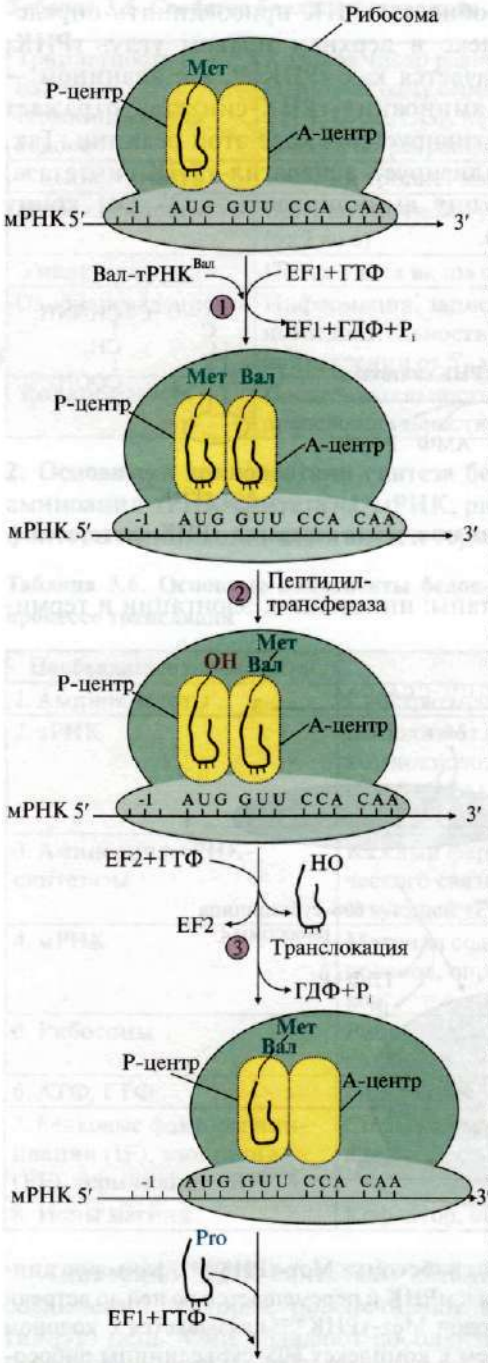


Рис. 3.16. Инициация белкового синтеза.

Комплекс, состоящий из 40S-субъединицы рибосомы, Мет-тРНК^{Мет}, факторов инициации и молекулы ГТФ, присоединяется к мРНК и перемещается по ней до встречи с инициирующим кодоном AUG. Антикодон Мет-тРНК^{Мет} связывается с кодоном AUG, это сопровождается присоединением к комплексу 60S-субъединицы рибосомы, гидролизом ГТФ и удалением факторов инициации. На рибосоме формируются А- и Р-центры. Мет-тРНК^{Мет} оказывается в Р-центре рибосомы. В процессе инициации участвует более 10 факторов инициации



Инициация начинается с присоединения к мРНК в области «кэпа» малой субъединицы рибосомы 40S, факторов инициации (IF), инициирующей Мет-тРНК^{Мет} и ГТФ. Когда в результате движения этого комплекса по мРНК антикодон Мет-тРНК^{Мет} свяжется с инициирующим кодоном AUG, комплекс останавливается. Происходит присоединение 60S-субъединицы рибосомы, сопровождающееся гидролизом ГТФ и отделением факторов инициации. Формируется 80S-рибосома с двумя активными центрами: **Р** (пептидильным) **центром**, в котором находится Мет-тРНК^{Мет}, и **А** (аминоацильным) **центром**, в область которого поступает первый смысловой кодон мРНК.

Этап **элонгации** включает три последовательные стадии (рис. 3.17).

Связывание аа-тРНК^{аа} в А-центре. В свободный А-центр присоединяется первая аа$_1$-тРНК$^{аа}{}_1$ (на рисунке это Вал-тРНК^{Вал}), у которой антикодон комплементарен кодону мРНК, находящемуся в области этого центра. Эта фаза процесса требует затраты энергии ГТФ и участия фактора элонгации EF1.

Рис. 3.17. Элонгация полипептидной цепи:

1 — связывание аа-тРНК^{аа} в А-центре требует затраты энергии ГТФ и участия фактора элонгации EF1 (на схеме аа-тРНК^{аа} — Вал-тРНК^{Вал}); 2 — образование пептидной связи катализирует пептидилтрансфераза, активный центр которой формируется рРНК, входящей в состав большой субъединицы рибосомы; 3 — перемещение рибосомы по мРНК на один кодон в направлении от 5′- к 3′-концу идет с использованием энергии ГТФ (транслокация) и при участии фактора EF2

Образование пептидной связи. На этой стадии происходит пептидилтрансферазная реакция, в ходе которой метионин от Мет-тРНК^{Мет}, входящей в Р-центр, переносится *на α-аминогруппу аминокислоты* (валина), находящейся в А-центре в составе аа-тРНК^{аа}, с образованием дипептидил-тРНК. В **пептидилтрансферазной реакции** ферментативную активность проявляет рРНК большой субъединицы рибосомы.

Транслокация — перемещение рибосомы по мРНК. В ходе этой стадии рибосома сдвигается на один кодон в направлении от 5′- к 3′-концу мРНК за счет энергии ГТФ и при участии фактора элонгации EF2. В результате дипептидил-тРНК (Мет-Вал-тРНК) из А-центра попадает в Р-центр, а в А-центре оказывается следующий кодон. Свободная тРНК^{Мет} теряет связь с Р-центром и покидает рибосому. Далее процесс продолжается по описанной схеме, повторяя стадии: 1→ 2 → 3.

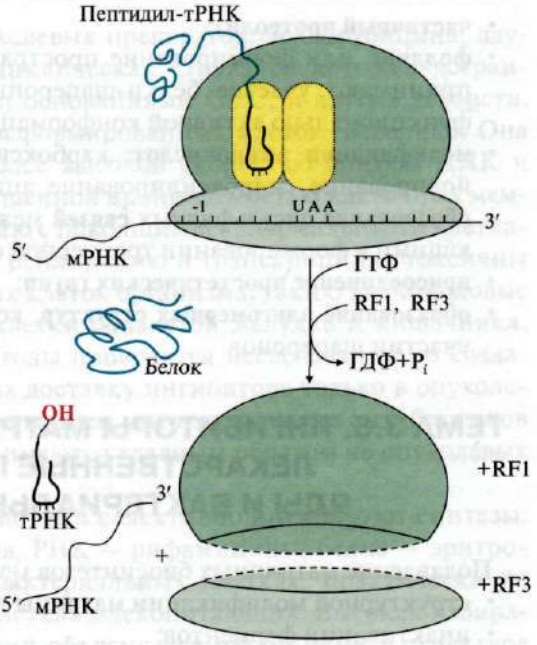


Рис. 3.18. Терминация синтеза белка.

При попадании в А-центр стоп-кодона вновь синтезированный пептид высвобождается из связи с тРНК и рибосомой с участием факторов терминации и энергии ГТФ

Терминация трансляции происходит после включения в А-центр одного *из стоп кодонов: UAG, UGA, UAA (рис. 3.18). Белковые факторы терминации* RF1 и RF3, взаимодействуя с этими кодонами, при участии пептидилтрансферазы обеспечивают гидролитическое отщепление синтезированного полипептида от тРНК, а также освобождение тРНК из пептидильного центра и диссоциацию рибосомы на субъединицы с затратой энергии молекулы ГТФ. Название факторов происходит от англ. releasing factor — RF, а цифры указывают на их сходство по строению с RF-факторами 1-го и 3-го прокариотов.

Одновременно несколько рибосом могут участвовать в трансляции одной мРНК. Каждая рибосома занимает участок, равный примерно 80 нуклеотидам мРНК. Таким образом, рибосомы располагаются на мРНК с интервалами около 100 нуклеотидов, образуя комплекс, называемый **полисомой**.

4. Функционально активные белки образуются в результате **посттрансляционных модификаций полипептидных цепей**, синтезированных на рибосомах. Они включают:

- **частичный протеолиз**;
- **фолдинг**, или формирование пространственной структуры, в котором принимают участие белки-шапероны, обеспечивающие образование функционально активной конформации полипептидной цепи;
- **модификации аминокислот**: карбоксилирование, фосфорилирование, йодирование, гидроксилирование, ацилирование и гликозилирование;
- **образование дисульфидных связей** между остатками цистеина, участвующими в формировании трехмерной структуры белка;
- **присоединение простетических групп**;
- **образование олигомерных структур**, которое также осуществляется при участии шаперонов.

ТЕМА 3.6. ИНГИБИТОРЫ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ: ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ, ЯДЫ И БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ТОКСИНЫ

Подавление матричных биосинтезов может быть достигнуто путем:
- структурной модификации матрицы и рибосом;
- инактивации ферментов;
- снижения синтеза исходных субстратов (НТФ и дНТФ).

Остановка любого из матричных биосинтезов опасна для клеток и может вызвать их гибель, поэтому многие ингибиторы матричных биосинтезов являются ядами для организма человека.

1. α-Аманитин — токсин, который содержится в бледной поганке *Amanita phalloides* и ингибирует эукариотические РНК-полимеразы, в особенности РНК-полимеразу II, которая отвечает за синтез мРНК.

2. Возбудитель дифтерии *Corynebacterium diphtheriae* выделяет токсин, который в организме человека подвергается гидролитическому расщеплению. Образуется фрагмент, являющийся специфическим ингибитором трансляции у эукариотов. Он обладает ферментативной активностью и катализирует АДФ-рибозилирование — перенос остатка АДФ-рибозы с NAD^+ на ОН-группу остатка серина в молекуле фактора элонгации EF2. Инактивация фактора ингибирует продвижение рибосомы по мРНК на стадии транслокации. В результате растущая пептидная цепь остается в аминоацильном центре рибосомы, биосинтез белков в инфицированных клетках слизистой зева и гортани прекращается.

3. Некоторые ингибиторы матричных биосинтезов нашли применение в медицине. Так, **антибиотики**, подавляющие процесс транскрипции и трансляции и специфичные в отношении белок-синтезирующей системы прокариотов, могут использоваться как **антибактериальные препараты**, а антибиотики, нарушающие матричную функцию ДНК, нашли применение при лечении злокачественных новообразований и являются **противоопухолевыми препаратами**.

Избирательность противоопухолевых препаратов: доксорубицина, дауномицина — *интеркаляторов, циклическая структура которых встраивается* между комплементарными основаниями G:::C, и других лекарств, взаимодействующих с ДНК трансформированных клеток, невелика. Она обеспечивается, как правило, более высокой скоростью синтеза ДНК и РНК в этих клетках, а также повышенной проницаемостью клеточных мембран для метаболитов по сравнению с покоящимися, нормальными клетками. Эти соединения ингибируют репликацию и транскрипцию, токсичны для быстроделящихся нормальных клеток организма, таких, как стволовые клетки кроветворной системы, клетки слизистой желудка и кишечника, фолликулов волос. В последние годы проводятся исследования по созданию препаратов, обеспечивающих доставку ингибитора только в опухолевые клетки. Это достигается связыванием цитотоксических антибиотиков с белками, рецепторы к которым имеются главным образом на опухолевых клетках.

Некоторые лекарства и антибиотики селективно ингибируют синтезы: ДНК — *семейство фторхинолонов*, РНК — *рифамицины*, *белка* — эритромицин, тетрациклин только в бактериальных клетках, практически не влияя на матричные синтезы в клетках млекопитающих. Высокая избирательность этой группы соединений объясняется различиями в структуре ферментов и рибосом эукариотических и прокариотических клеток.

4. Течение многих вирусных инфекций сопровождается гибелью зараженных клеток. Многие **вирусы**, например оспы, гриппа, полиомиелита, попадая в *эукариотические клетки, прекращают в них синтез нуклеиновых кислот и* белков, характерных для данного организма, переключая ферментные системы и энергетические ресурсы на воспроизведение вирусных частиц.

5. Защиту организма от вирусных инфекций обеспечивают **интерфероны**. Семейство этих белков синтезируется в клетках эукариотов в ответ на вирусную инфекцию. Они индуцируют в зараженных клетках образование протеинкиназы, которая фосфорилирует фактор инициации трансляции IF2 и *таким образом прекращает работу белок-синтезирующего аппарата*. Кроме того, интерфероны повышают активность РНКаз, расщепляющих матричные и рибосомные РНК клетки, что также ведет к прекращению синтеза белка и гибели инфицированных клеток.

ТЕМА 3.7. МЕХАНИЗМЫ АДАПТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ У ПРОКАРИОТОВ И ЭУКАРИОТОВ

Адаптация организмов к различным воздействиям окружающей среды часто осуществляется путем изменения экспрессии (активности) генов, т.е. изменения скорости транскрипции определенных участков на молекулах ДНК. Этот процесс, в деталях изученный на бактериях, включает взаимодействие специфических белков с участками ДНК в непосредственной близости от стартового участка транскрипции — промотора.

1. Адаптивная регуляция активности генов у прокариотов получила объяснение в **теории оперона**. Согласно этой теории на молекуле ДНК прокариотов присутствуют определенные участки — **опероны**. В состав этих участков ДНК входят **структурные гены**, содержащие информацию о группе функционально взаимосвязанных белков, которые участвуют в одном и том же метаболическом пути, **промотор** и **оператор**. Участки промотора и оператора частично перекрываются. Транскрипцию структурных генов контролирует оператор, присоединение к которому белка-репрессора не позволяет РНК-полимеразе связаться с промотором и начать транскрипцию. **Белок-репрессор** синтезируется в клетке с постоянной скоростью, его строение кодирует мРНК, транскрибируемая с гена-регулятора, расположенного на некотором расстоянии от оперона, работу которого контролирует его белковый продукт.

Если **оперон** регулируется **по механизму индукции** (например, лактозный оперон), то в отсутствии индуктора (лактозы) белок-репрессор связан с оператором. Комплекс белок-репрессор—оператор препятствует связыванию РНК-полимеразы с промотором, и транскрипция структурных генов оперона не идет. Когда концентрация индуктора в клетке возрастет, то он присоединится к белку-репрессору, который имеет центр для связывания индуктора, изменяет его конформацию и снижает сродство к оператору. Комплекс индуктор—белок-репрессор теряет сродство к ДНК и уходит в цитозоль клетки. РНК-полимераза связывается с промотором и транскрибирует структурные гены. Идет синтез белков, закодированных в данном опероне (рис. 3.19).

При регуляции оперона **по механизму репрессии** (например, гистидиновый или триптофановый опероны) белок-репрессор, постоянно синтезируемый в клетках, не имеет сродства к оператору. Когда к белку-репрессору присоединится небольшая молекула — корепрессор (гистидин или триптофан, как правило, конечный продукт метаболического пути, ферменты которого закодированы в структурных генах оперона), то в результате конформационных изменений комплекс белка-репрессора с корепрессором приобретает сродство к оператору и прекращает транскрипцию. Так, гистидиновый оперон содержит 10 структурных генов, кодирующих строение ферментов синтеза гистидина. Добавки гистидина в среду выращивания клеток *E. coli* вызывают снижение количества, а затем и полное исчезновение из внутриклеточного содержимого ферментов синтеза гистидина (рис. 3.20).

2. Адаптивная регуляция активности генов у эукариотов обеспечивает изменения скорости транскрипции отдельных генов в ответ на меняющиеся условия внутренней и внешней среды. В клетках многоклеточных организмов часть генов кодирует белки «домашнего хозяйства», которые синтезируются с постоянной скоростью и обеспечивают жизнеспособность клеток. Это — гены ферментов, участвующие в биологическом окислении, синтезе АТФ, образовании компонентов мембран и т.д.

Регуляция у высших организмов отличается от регуляции транскрипции у прокариотов многообразием сигналов, которые контролируют не только начало процесса на молекуле ДНК, но и частоту, с которой он

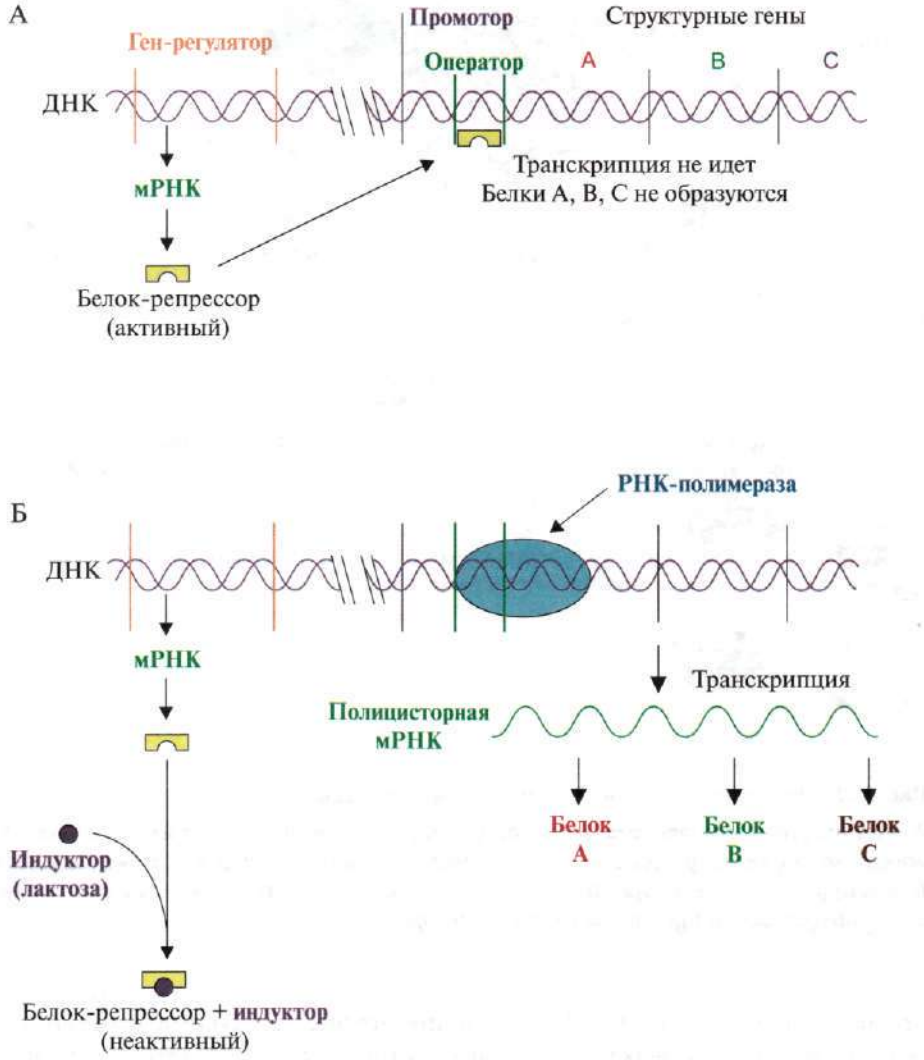


Рис. 3.19. Оперон, регулируемый по механизму индукции (лактозный оперон):

А — в отсутствие индуктора в среде белок-репрессор связывается с оператором. РНК-полимераза не может присоединиться к промотору, транскрипция не идет; Б — в присутствии индуктора белок-репрессор образует комплекс с молекулами индуктора, меняет конформацию и теряет сродство к оператору. РНК-полимераза транскрибирует гены A, B, C и происходит синтез белков: β-галактозидазы, пермиазы, галактозидтрансацетилазы, участвующих в утилизации лактозы

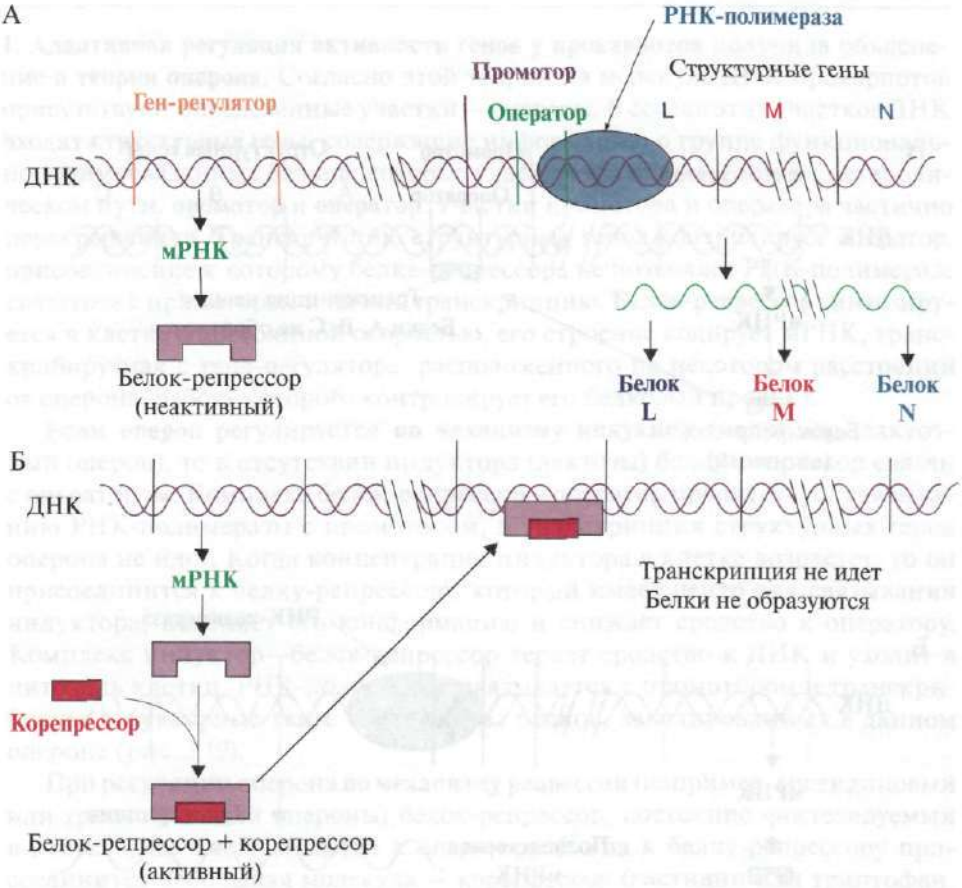


Рис. 3.20. Оперон, регулируемый по механизму репрессии:

А — в отсутствие корепрессора белок-репрессор неактивен и не имеет сродства к оператору до тех пор, пока небольшая молекула-корепрессор не свяжется с ним; Б — в присутствии корепрессора комплекс белок-репрессор—корепрессор связывается с оператором и прекращает транскрипцию

происходит (рис. 3.21). ТАТА-участок промотора присоединяет ТАТА-связывающий белок, факторы транскрипции обеспечивают взаимодействие с РНК-полимеразой и определяют стартовую точку транскрипции. Минимальный синтез мРНК становится возможным после связывания РНК-полимеразы с группой дополнительных транскрипционных факторов. Если кроме указанных компонентов с РНК-полимеразным комплексом связываются белки, присоединенные к регуляторным участкам ДНК, то скорость транскрипции меняется. Она возрастает, если это будут белки, взаимодействующие с участками ДНК—**энхансерами** (усилителями), и снижается, если к транскрипционному комплексу

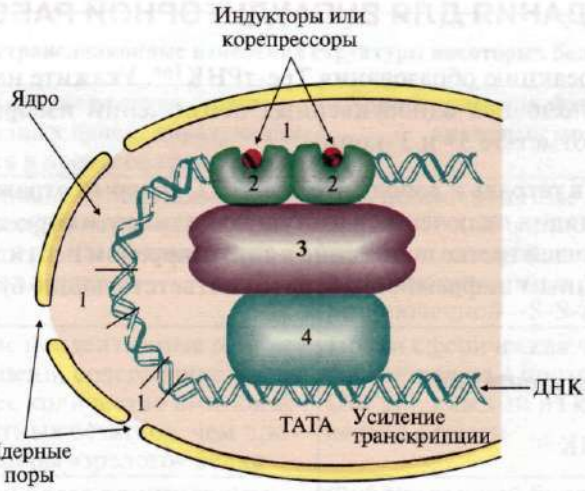


Рис. 3.21. Адаптивная регуляция транскрипции генов у эукариотов.

Область, обеспечивающая регуляцию экспрессии генов, включает в себя промоторный участок и дополнительные регуляторные последовательности, в которые входят энхансеры, сайленсеры, гормон-чувствительные участки, последовательности GC, CAAT и др. Белки, связывающиеся с ДНК в этих участках, называют специфическими регуляторными белками. Они влияют на скорость транскрипции генов, взаимодействуя с белками-посредниками или коактиваторами, передающими сигнал на основные транскрипционные факторы и РНК-полимеразу:
1 — регуляторные участки ДНК; 2 — регуляторные белки; 3 — белки-коактиваторы; 4 — РНК-полимеразный комплекс

присоединится белок, связывающийся с участком **сайленсера** (тушитель транскрипции). Регуляторные зоны ДНК — энхансеры и сайленсеры, гормон-чувствительные участки, специфические регуляторные последовательности (например, GC, CAAT и др.) различны по числу и расположению на молекуле ДНК для разных генов в разных тканях, т.е. являются тканеспецифическими характеристиками. Они могут располагаться за тысячи нуклеотидных пар от стартовой точки транскрипции впереди, после или внутри гена, связывать комплексы белков с метаболитами или гормонами и влиять на конформацию гена.

Индукторами или корепрессорами, стимулирующими присоединение регуляторных белков к ДНК, могут быть гормоны, ионы металлов, субстраты или продукты метаболических путей.

Определенное значение в регуляции состава и содержания белков имеют посттранскрипционные превращения пре-мРНК в процессе альтернативного сплайсинга, изменение стабильности РНК в разные периоды жизни клетки. Описаны примеры влияния факторов среды на сродство рибосом к мРНК, посттрансляционные модификации полипептидных цепей и изменения продолжительности жизни белковых молекул.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Напишите реакцию образования Тре-тРНК^{Тре}. Укажите название и класс фермента. С помощью однобуквенных обозначений изобразите строение антикодона и отметьте 5′- и 3′-концы.

2. Перенесите в тетрадь и дополните рис. 3.22, который отражает события на рибосоме на стадии включения в растущую полипептидную цепь аминокислоты, занимающей третье положение в синтезируемом пептиде. К компонентам, обозначенным цифрами, подберите соответствующие буквы:

А. ГТФ
Б. H_3PO_4
В. Факторы элонгации
Г. ГДФ
Д. Тре-тРНК

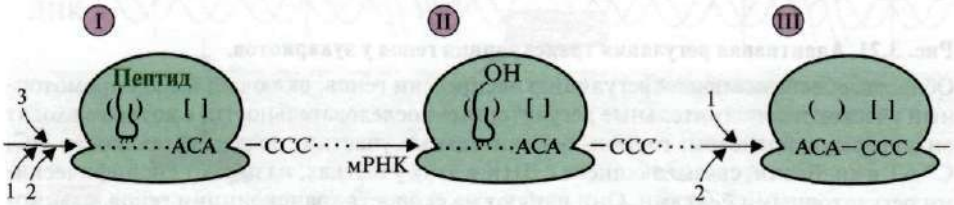


Рис. 3.22. События на рибосоме в ходе элонгации:
I–III — стадии элонгации

Ответьте на вопросы:

а) какое событие на рибосоме представлено в схеме рис. 3.22 под № I?
б) какая нуклеиновая кислота участвует в пептидилтрансферазной реакции и за счет какой энергии происходит образование новой пептидной связи на стадии II?
в) как называется стадия элонгации, в ходе которой рибосома перемещается по мРНК на один кодон, как это показано на схеме III?

3. Заполните графу IV в табл. 3.4 модульной единицы 1.

4. Перенесите табл. 3.7 в тетрадь и, используя приведенные в ней данные, определите и запишите посттрансляционные модификации, которые происходят с полипептидами-предшественниками HbA, инсулина и тропоколлагена типа I при их превращении в функционально активные молекулы.

5. Перенесите табл. 3.8 в тетрадь и распределите лекарственные препараты, используемые в клинике для подавления матричных синтезов, на две группы: А — антибактериальные и В — противоопухолевые препараты.

6. Изучив механизмы адаптивной регуляции у прокариотов, перенесите в тетрадь и заполните табл. 3.9 и 3.10.

Таблица 3.7. Посттрансляционные изменения структуры некоторых белков

Белки	Характеристика полипептидных цепей, образующихся в процессе трансляции	Характеристика функционально активных молекул
А. Инсулин	Одна полипептидная цепь препроинсулина, состоящая из 104 аминокислотных остатков	Две полипептидные цепи, содержащие 21 и 30 аминокислотных остатков, соединенные двумя межцепочечными и одной внутрицепочечной -S-S-связями
Б. HbA	Две неидентичные α- и β-цепи, содержащие большее количество аминокислотных остатков, чем протомеры «зрелого» белка	Почти сферическая частица, состоящая из 4 протомеров (2α, 2β), каждый из которых связан с гемом
В. Тропоколлаген 1	Три более длинные, чем зрелые полипептидные цепи, содержащие остатки Про, Лиз, Гли	Фибриллярный белок — гликопротеин, состоит из 3 цепей, образующих правозакрученную суперспираль и содержащих много остатков гидроксипролина и гидроксилизина

Таблица 3.8. Лекарственные препараты — ингибиторы матричных биосинтезов

Препарат	Группа	Механизм действия
Доксорубицин		Связывается с ДНК, внедряясь между основаниями, генерирует активные формы кислорода, вызывая разрывы в структуре макромолекулы
Рифамицин		Связывается с РНК-полимеразой бактерий, ингибирует начало синтеза РНК
Мелфалан		Алкилирует молекулу ДНК и повреждает ее структуру
Эритромицин		Связывается с 50S-субъединицей рибосомы и предотвращает транслокацию
Винбластин		Останавливает клетки в G2-фазе и препятствует митозу
Блеомицин		Вызывает хромосомные разрывы и фрагментацию ДНК
Тетрациклин		Присоединяется к 30S-субъединице рибосомы и ингибирует связывание аа-тРНК в А-центре

Таблица 3.9. Структурные компоненты оперона и их функции

Структурный компонент оперона	Функция
Структурные гены	
Оператор	
Промотор	
Ген-регулятор	

Таблица 3.10. Регуляция синтеза ферментов у прокариотов

Метаболический путь	Схематическое изображение	Регуляторный фактор	Влияние регуляторных факторов на		
			средство белка-регулятора к оператору (4)	синтез ферментов (5)	изменение концентрации метаболитов 1, 2, 3 (6)
1. Утилизация лактозы (1)	Лактоза $\xrightarrow{E_1}$ P_1 $\xrightarrow{E_2}$ P_2 $\xrightarrow{E_3}$ P	Лактоза			
2. Синтез гистидина (2)	S $\xrightarrow{E_1}$ P_1 $\xrightarrow{E_2}$ P_2 ... $\xrightarrow{E_{10}}$ Гис	Гис			
3. Синтез изолейцина (3)	Тре $\xrightarrow{E_1}$ P_1 ... $\xrightarrow{E_n}$ Иле	Иле			

1, 2, 3 — метаболиты, изменение концентрации которых в клетке является результатом регуляции

В табл. 3.10 в колонках 4, 5, 6 укажите влияние регуляторных факторов на:

а) сродство белка-регулятора к оператору (повышается ↑ или понижается ↓);

б) синтез ферментов регулируется путем индукции или репрессии;

в) изменение концентрации метаболитов, являющихся исходными субстратами (лактоза) или конечными продуктами (Гис или Иле) метаболических путей (↑или ↓).

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выполните «цепное» задание:

а) на рис. 3.23 изображен этап в процессе синтеза белка:

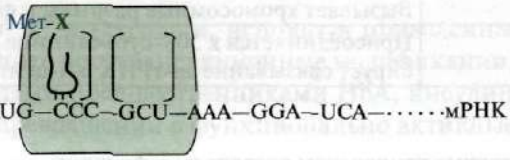


Рис. 3.23. Этап синтеза белка

А. Инициация

Б. Элонгация

В. Терминация

б) на этом этапе к рибосоме присоединяется в А-центр тРНК, связанная с аминокислотой:

А. Глу
Б. Ала
В. Про
Г. Мет
Д. Фен

в) эта аа-тРНК будет участвовать в:

А. Образовании пептидной связи
Б. Связывании аа-тРНК в А-центре
В. Транслокации
Г. Терминации

г) за ней будет следовать:

А. Образование пептидной связи
Б. Терминация
В. Транслокация
Г. Перемещение аа-тРНК в Р-центр

д) в ходе которой требуется затрата энергии:

А. АТФ
Б. ГТФ
В. Макроэргической связи пептидил-тРНК
Г. Макроэргической связи молекулы аа-тРНК

е) эта энергия тратится на:

А. Образование новой пептидной связи в А-центре рибосомы
Б. Образование новой пептидной связи в Р-центре рибосомы
В. Перемещение рибосомы по мРНК на один кодон в направлении от 5′- к 3′-концу
Г. Диссоциацию рибосомы

2. Установите соответствие.

А. Противоопухолевые антибиотики
Б. Антибактериальные антибиотики
В. Интерфероны
Г. Дифтерийный токсин
Д. α-Аманитин

1. Блокируют синтез РНК и белка у микроорганизмов
2. Нарушают стадию транслокации рибосом в клетках эукариотов
3. Взаимодействуют с ДНК и нарушают ее матричную функцию

3. Выберите правильные ответы.

Интерфероны:

А. Представляют собой группу родственных белков, которые синтезируются в вирус-инфицированных клетках
Б. Прекращают синтез белков в зараженных клетках
В. Повышают активность рибонуклеазы
Г. Стимулируют фосфорилирование фактора инициации IF2
Д. Присоединяются к 50S-субъединице рибосомы

4. Выберите правильные ответы.

В клетках, инфицированных вирусами:

А. Прекращается синтез РНК и белка клеток хозяина

Б. Активируется синтез интерферонов

В. Белок-синтезирующий аппарат клеток хозяина используется для воспроизводства вирусных белков

Г. Наблюдается модификация азотистых оснований в молекуле ДНК

Д. Активируется фосфорилирование фактора элонгации EF2

5. Установите правильный порядок событий.

Регуляция синтеза холестерола осуществляется следующим образом:

А. Снижается скорость транскрипции гена, кодирующего структуру регуляторного фермента синтеза холестерола

Б. Холестерол в клетках гепатоцитов связывается с белком-рецептором

В. Присоединение комплекса холестерол—рецептор изменяет конформацию ДНК

Г. Комплекс холестерол—рецептор связывается с участком сайленсера на молекуле ДНК

Д. Комплекс холестерол—рецептор проходит в ядро

6. Выполните «цепное» задание.

Кортизол — гормон коры надпочечников, легко проходит плазматическую мембрану гепатоцитов и повышает синтез глюкозы из аминокислот и пирувата:

а) в клетках гормон взаимодействует с:

А. тРНК

Б. ДНК

В. Белком-рецептором

Г. РНК-полимеразой

б) комплекс гормона с выбранным вами веществом поступает в:

А. Ядрышко

Б. ЭПР

В. Цитоплазму

Г. Ядро

в) в этом компартменте комплекс взаимодействует с:

А. Рибосомой

Б. Энхансером

В. Сайленсером

Г. Белок-синтезирующим комплексом

Д. РНК-полимеразой

г) результатом взаимодействия является (выберите правильные ответы):

А. Изменение конформации ДНК

Б. Ускорение транскрипции генов

В. Снижение скорости транскрипции

Г. Увеличение содержания мРНК, кодирующих ферменты синтеза глюкозы

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. а) Б, б) Б, в) А, г) В, д) Б, е) В
2. 1—Б, 2—Г, 3—А
3. А, Б, В
4. А, Б, В
5. Б→Д→Г→В→А
6. а) В, б) Г, в) Б, г) А, Б, Г

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Генетический код и его свойства: триплетность, специфичность, вырожденность, однонаправленность, универсальность, колинеарность
2. Аминоацил-тРНК-синтетазы
3. Инициация, элонгация, терминация — этапы биосинтеза белка
4. Транслокация как этап в процессе перемещения рибосомы по мРНК
5. Посттрансляционные модификации
6. Ингибиторы матричных биосинтезов: репликации, транскрипции и трансляции
7. Оперон: структура и функции
8. Адаптивная регуляция генов эукариотов
9. Энхансеры и сайленсеры

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Митохондриальная ДНК кодирует 13 ферментов, участвующих в биологическом окислении. При синдроме MELAS у пациентов обнаруживается накопление в крови молочной кислоты, энцефалопатия и инсультоподобные эпизоды. Оказалось, что причиной заболевания является мутация в гене, кодирующем строение тРНК^{Лей}, связывающейся с лейцином. Объясните, какие этапы в синтезе митохондриальных ферментов будут нарушены при этой патологии по сравнению с нормой.

Для этого:

а) напишите реакцию связывания Лей с тРНК^{Лей}, назовите фермент;

б) на схеме представьте включение Лей-тРНК^{Лей} в растущую полипептидную цепь;

в) назовите этапы этого процесса и укажите, какая из стадий этого этапа будет нарушена при синдроме MELAS.

2. Пациенту, страдающему полимиелитом, назначено введение интерферона. Объясните правомерность такого назначения. Для этого:

а) опишите механизм действия интерферонов на синтетические процессы в клетке;

б) укажите, с какими клетками — здоровыми или пораженными вирусами — взаимодействуют интерфероны и какова судьба зараженных клеток.

3. *Камптотецин и левомицетин (хлорамфеникол) — ингибиторы матричных биосинтезов*, нашедшие применение в медицинской практике. Камптотецин образует комплекс с ДНК-топоизомеразой I и нарушает ее активность, а левомицетин присоединяется к 50S-субъединице рибосомы и ингибирует активность пептидилтрансферазы. Предположите, в какой из областей медицины используется каждый из описанных препаратов.

Для ответа:

а) назовите, какие матричные биосинтезы и в каких клетках ингибируют эти препараты;

б) изобразите схемы процессов и отметьте стадии, протекание которых блокируют указанные лекарства;

в) укажите, какова степень их избирательности и токсичности.

4. Пациенту с тяжелой формой пневмонии назначили антибактериальный препарат — рифампицин. Объясните, каков механизм бактерицидного действия рифампицина. Для этого:

а) изобразите схему процесса, который ингибирует рифампицин;

б) укажите причины нарушения синтеза бактериальных белков в организме больного под влиянием препарата и его высокую избирательность.

5. В клетках *E. coli* аминокислота Иле синтезируется из аминокислоты Тре. В присутствии высоких концентраций Иле в питательной среде выращивания синтез этой аминокислоты прекращается. Объясните, информация о каких белках закодирована в структурных генах Иле-оперона и как меняется их экспрессия в этих условиях. Для этого:

а) нарисуйте схему Иле-оперона и отметьте регуляторные и структурные участки;

б) объясните функции этих участков;

в) укажите, по какому механизму Иле регулирует активность оперона.

6. В случае синтеза в организме избыточного количества гормона альдостерона наблюдается снижение содержания ионов Na^+ в моче при одновременном повышении их концентрации в крови и внеклеточной жидкости за счет увеличения количества белков-переносчиков этих ионов в канальцах нефронов. Объясните, как и почему при гиперпродукции альдостерона меняется содержание ионов Na^+ в моче и крови.

Для этого:

а) представьте схему, отражающую влияние альдостерона на содержание белков-переносчиков ионов Na^+ в канальцах нефронов;

б) назовите участок ДНК, с которым будет взаимодействовать комплекс гормон—рецептор;

в) укажите матричный процесс, который ускоряется первично при действии гормона.

Модульная единица 3
МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ И ВОЗНИКНОВЕНИЯ РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ У ЭУКАРИОТОВ. ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ, НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ. ДНК-ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ

Цели изучения

Уметь:

1. Объяснять фенотипическую изменчивость как результат разной доступности генов для транскрипции и изменений первичной структуры ДНК, т.е. как следствие генетической изменчивости.
2. Обосновывать представления о полиморфизме белков в популяции человека как о результате генотипической гетерогенности и о наследственных болезнях, являющихся следствием дефектов в генотипе.
3. Интерпретировать данные генно-инженерных исследований, основанные на использовании рекомбинантных ДНК.
4. Интерпретировать результаты анализа ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Знать:

1. Механизмы, обеспечивающие разнообразие белков у эукариотов. Происхождение разнообразия антител. Иммунодефициты.
2. Причины возникновения наследственных болезней.
3. Молекулярные механизмы генетической изменчивости.
4. Формирование рекомбинантных ДНК. Клонирование химерных молекул ДНК и ПЦР как методы изучения генома.
5. Принципы метода ПЦР и области его применения.

ТЕМА 3.8. МЕХАНИЗМЫ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ РАЗНООБРАЗИЕ БЕЛКОВ У ЭУКАРИОТОВ

У эукариотов набор и количество синтезирующихся белков может зависеть от доступности генов для транскрипции, перестройки генов, альтернативного сплайсинга и изменения стабильности мРНК.

1. В организме человека имеется более 200 различных типов клеток, существенно различающихся по структуре и функциям, хотя количество и структура ДНК в них практически одинаковы. Существование специализированных органов и тканей зависит от экспрессии генов, при которой в дифференцированных клетках разных тканей транскрибируются разные участки хроматина. Это достигается благодаря существованию механизма **стойкой репрессии транскрипции** части генов на протяжении всей жизни организма. В разных тканях стабильной репрессии подвергаются разные

гены. Формирование зон стабильной репрессии происходит в процессе онтогенеза и дифференцировки клеток.

Транскрипционно неактивные или стабильно репрессированные **участки хроматина получили название гетерохроматина. Стойкая репрессия** генов в участках гетерохроматина обеспечивается:

- высококонденсированным состоянием ДНК;
- метилированием дезоксицитидина в CpG-последовательностях ДНК (эта модификация изменяет конформацию хроматина и препятствует транскрипции);
- связыванием ДНК с гистонами и образованием нуклеосом.

В хроматине клеток разных органов и тканей наряду с нетранскрибируемыми зонами ДНК имеются активные или потенциально активные участки — **участки эухроматина**. В областях эухроматина на ДНК расположены транскрибируемые гены. Эти области характеризуются:

- наличием молекул гистонов, в которых метилированы или ацетилированы аминогруппы в радикалах Лиз и Арг, а остаток Сер фосфорилирован. Это снижает суммарный положительный заряд гистонов и ослабляет их связь с ДНК в нуклеосомах;
- наличием участков, более чувствительных к действию ДНКаз.

За исключением лимфоцитов каждая клетка организма содержит один и тот же набор генов. Однако «активность» одних и тех же генов в клетках тканей может существенно различаться. Например, в ретикулоцитах участок ДНК, содержащий ген β-глобина, находится в области «активного» хроматина, а в мышечных клетках локализован в районе «неактивного» хроматина.

2. Перестройка генов. Это явление наиболее отчетливо наблюдается при формировании разнообразия иммуноглобулинов (Ig). В зародышевых и всех соматических клетках нет полных генов, кодирующих L- и H-цепи Ig. Информация об отдельных участках цепи Ig представлена в виде соответствующих фрагментов молекулы ДНК — **сегментов**. В молекулах ДНК сегменты, кодирующие вариабельные (V) и константные (C) домены L- и H-цепей (легких и тяжелых цепей соответственно), разделены протяженными нуклеотидными последовательностями. Обнаружено три разных семейства сегментов. Это два семейства, ответственные за синтез легких цепей, — λ (локализованное в 22-й хромосоме) и ϰ (2-я хромосома) — и одно семейство, содержащее информацию о всем разнообразии H-цепей (14-я хромосома). Каждая легкая цепь кодируется тремя отдельными сегментами: V (вариабельным), J (соединяющим) и C (константным). Для ϰ-цепей существует по 250 V-сегментов, 5 J-сегментов и 1 C-сегмент (рис. 3.24). Тяжелые цепи кодируются 4 сегментами ДНК: V_H, D (сегмент разнообразия), J_H и C_H. У человека около 1000 V_H-сегментов, более 12 D-сегментов и 4 J_H-сегмента.

В ходе дифференцировки клеток — предшественников В-лимфоцитов полные гены L-цепей собираются из трех сегментов в результате одной **соматической рекомбинации**: один из 250-ти V_L сегментов соединяется с одним из 5 J-сегментов с образованием смешанного VJ-экзона,

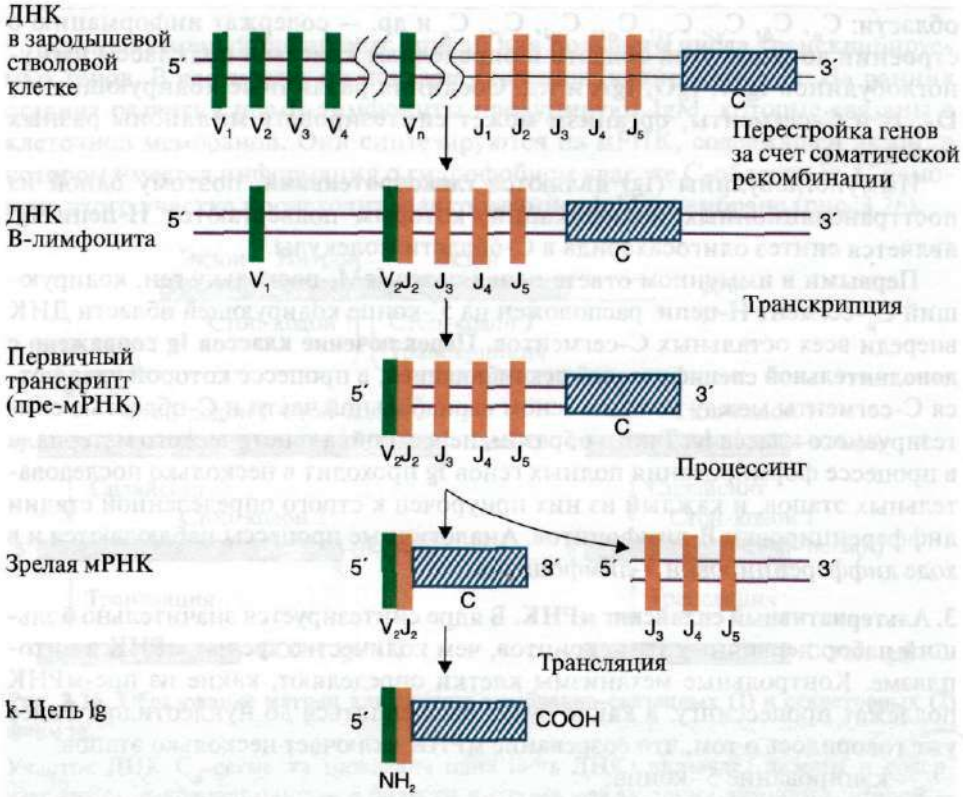


Рис. 3.24. Синтез легкой κ-цепи иммуноглобулина

Рекомбинация объединяет один V-сегмент вариабельного домена с одним из J-сегментов и приближает их к константному сегменту (C). После транскрипции образуется первичный транскрипт (пре-мРНК). Удаление лишних J-сегментов и интронов происходит в ходе посттранскрипционной модификации этой пре-мРНК, что приводит к появлению зрелой мРНК, после трансляции которой появляется белковый вариант легкой цепи Ig. Молекула ДНК показана в виде одной цепи

а нуклеотидная последовательность ДНК между выбранными сегментами удаляется. С помощью такой перегруппировки V_L- и J_L-сегменты, выбранные из множества им подобных, транскрибируются с образованием единой молекулы мРНК предшественника. После созревания она превращается в мРНК, кодирующую одну из L-цепей Ig. Сходным образом образуются легкие λ-цепи.

При формировании полного гена H-цепи первоначально собирается **смешанный экзон из двух любых D- и J-сегментов в процессе первой рекомбинации.** Затем **в ходе второй рекомбинации к DJ-экзону присоединяется один из V_H-сегментов и образуется полный ген H-цепи IgM**, поскольку к смешанному $V_HD_HJ_H$-экзону, кодирующему вариабельный домен H-цепи, ближе всего находится Cμ-сегмент. Десять C_H-сегментов константной

области: C_{μ}, C_{δ}, $C_{\gamma 3}$, $C_{\gamma 1}$, $C_{\alpha 1}$, $C_{\gamma 2}$, $C_{\gamma 4}$, C_{ε} и др. — содержат информацию о строении доменов этой области и определяют классы и подклассы иммуноглобулинов IgM, IgG, IgA и т.д. Соединяя различные кодирующие V-, D-, J- и C-сегменты, организм может синтезировать миллионы разных молекул Ig.

Иммуноглобулины (Ig) являются **гликопротеинами**, поэтому одной из посттрансляционных модификаций, которым подвергаются H-цепи Ig, является синтез олигосахарида в C-области молекулы.

Первыми в иммунном ответе появляются IgM, поскольку ген, кодирующий C_{μ}-сегмент H-цепи, расположен на 5′-конце кодирующей области ДНК впереди всех остальных C-сегментов. **Переключение классов Ig сопряжено с дополнительной специфической рекомбинацией**, в процессе которой удаляются C-сегменты между полным геном вариабельной части и C-областью синтезируемого класса Ig. Таким образом, перестройка генетического материала в процессе формирования полных генов Ig проходит в несколько последовательных этапов, и каждый из них приурочен к строго определенной стадии дифференцировки B-лимфоцитов. Аналогичные процессы наблюдаются и в ходе дифференцировки T-лимфоцитов.

3. Альтернативный сплайсинг мРНК. В ядре синтезируется значительно больший набор первичных транскриптов, чем количество зрелых мРНК в цитоплазме. Контрольные механизмы клетки определяют, какие из пре-мРНК подлежат процессингу, а какие будут расщепляться до нуклеотидов. Ранее уже говорилось о том, что созревание мРНК включает несколько этапов:

— кэпирование 5′-конца;

— присоединение поли-(A)-фрагмента к 3′-концу;

— сплайсинг (удаление интронов).

В некоторых случаях наблюдается **альтернативный сплайсинг** в сочетании с полиаденилированием, что **приводит к образованию нескольких «зрелых» мРНК**, кодирующих различающиеся между собой белки **из одного и того же первичного транскрипта**. Так, в парафолликулярных клетках щитовидной железы в ходе транскрипции гена кальцитонина образуется мРНК, которая содержит информацию о гормоне белковой природы, ответственном за регуляцию обмена ионов кальция (рис. 3.25). В мозге тот же первичный транскрипт подвергается другому варианту сплайсинга и полиаденилирования, и получается мРНК, кодирующая белок, ответственный за вкусовое восприятие.

Рис. 3.25. Сплайсинг пре-мРНК гена кальцитонина в клетках щитовидной железы и мозга

Альтернативный сплайсинг описан для большого числа транскрибируемых генов. В частности, он показан для генов, кодирующих Ig. На ранних стадиях развития пре-В-лимфоциты продуцируют IgM, которые связаны с клеточной мембраной. Они синтезируются на мРНК, содержащей экзон, в котором имеется информация о гидрофобном участке С-области Ig. С помощью этого участка происходит «заякоревание» IgM в мембране (рис. 3.26).

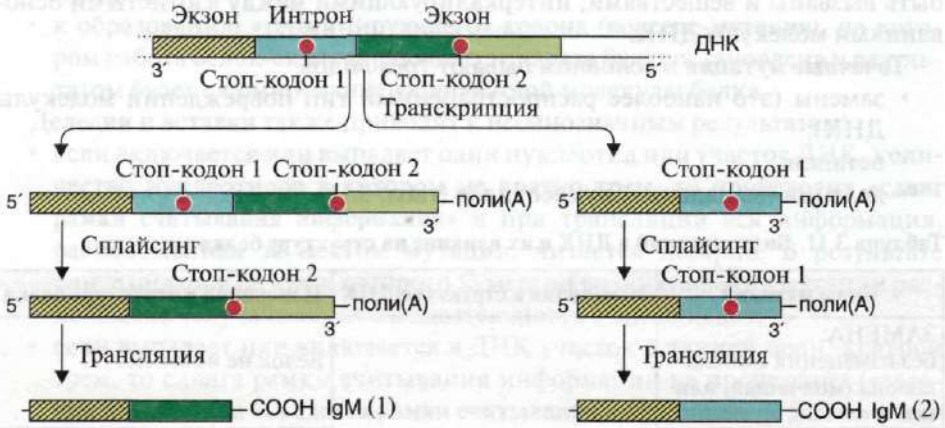


Рис. 3.26. Образование матриц для синтеза мембранно-связанных (1) и секреторных (2) форм Ig.

Участок ДНК C_{μ}-сегмента (показана одна цепь ДНК) включает экзоны и содержит два стоп-кодона: один — в области интрона между двумя экзонами, второй — в составе второго экзона. В процессе транскрипции этого участка ДНК образуются два варианта первичного транскрипта как результат прочтения разных стоп-кодонов. После трансляции транскриптов образуются две разные формы IgM: «заякоренной» (1) в мембране и секреторной (2)

В ходе дифференцировки образуются плазматические клетки, в которых за счет остановки транскрипции на стоп-кодоне 1, входящем в интрон, и альтернативного полиаденилирования исчезает экзон, кодирующий гидрофобный участок молекулы, и синтезируются укороченные молекулы антител, которые секретируются в кровь.

ТЕМА 3.9. МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ: ЭВОЛЮЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ, ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ

Существование живого организма невозможно без генетической изменчивости, которая возникает за счет **мутаций** и **рекомбинаций в процессе мейоза**. В последнем случае происходит обмен участками ДНК между гомологичными хромосомами родителей. **Мутации** — это нерепарированные изменения (альтерации) первичной структуры ДНК, появляющиеся в молекуле в результате ошибок в работе ДНК-полимераз или ДНК-репарирующих систем,

воздействия факторов внешней (радиация) и внутренней (мутагены) среды. Мутации возникают при действии алкилирующих агентов. Алкильная группа присоединяется к N_7 пуринового кольца гуанина, изменяя его ионизацию и характер связывания с другим нуклеотидом в комплементарной паре. В результате против алкилированного гуанина встает тимин, а следовательно, в последующем поколении пара G—C заменяется на A—T. Мутации могут быть вызваны и веществами, интеркалирующими между азотистыми основаниями молекулы ДНК.

Точечные мутации в основном бывают трех видов:

- замены (это наиболее распространенный тип повреждений молекулы ДНК);
- вставки;
- делеции (выпадения) нуклеотидов (табл. 3.11).

Таблица 3.11. Виды мутаций в ДНК и их влияние на структуру белка

Виды мутаций	Изменения в структуре ДНК	Изменения в структуре белка
ЗАМЕНА: без изменения смысла кодона (молчащая, или нейтральная, мутация)	Замена одного нуклеотида в кодоне	Белок не изменен
с изменением смысла кодона (миссенс-мутация)		Происходит замена одной аминокислоты на другую
с образованием терминирующего кодона (нонсенс-мутация)		Синтез пептидной цепи прерывается на этом кодоне и образуется незавершенный белок
ВСТАВКА: без сдвига рамки считывания информации	Вставка фрагмента ДНК из трех нуклеотидов или с числом нуклеотидов, кратным трем	Происходит удлинение полипептидной цепи на одну или несколько аминокислот
со сдвигом рамки считывания информации	Вставка одного или нескольких нуклеотидов, не кратных трем	Синтезируется пептид со «случайной» последовательностью аминокислот, так как изменяется смысл всех кодонов, следующих за местом мутации
ДЕЛЕЦИЯ: без сдвига рамки считывания информации	Выпадение фрагмента ДНК из трех нуклеотидов или с числом нуклеотидов, кратным трем	Происходит укорочение белка на одну или несколько аминокислот
со сдвигом рамки считывания информации	Выпадение одного или нескольких нуклеотидов, не кратных трем	Синтезируется пептид со «случайной» последовательностью аминокислот, так как изменяется смысл всех кодонов, следующих за местом мутации

Каждый тип мутации вызывает разные последствия. Так, **замена нуклеотида** может приводить:

- к «молчащей» (нейтральной) мутации, которая не проявится в белке, если кодирующий триплет, в котором находится мутантный нуклеотид, из-за вырожденности кода обеспечивает включение в белок той же аминокислоты, что и исходный кодон;
- к включению в белок одной измененной аминокислоты (**миссенс-мутация**);
- к образованию «терминирующего» кодона (**нонсенс-мутация**), на котором работа белок-синтезирующего аппарата будет остановлена и результатом будет формирование укороченной молекулы белка.

Делеции и **вставки** также приводят к неоднозначным результатам:

- если включается или выпадает один нуклеотид или участок ДНК, количество нуклеотидов в котором не кратно трем, то происходит **«сдвиг рамки считывания информации»** и при трансляции вся информация, расположенная за местом мутации, читается неверно. В результате синтезируется белок, у которого за местом возникновения мутации расположена «случайная» последовательность аминокислот;
- если выпадает или включается в ДНК участок с длиной цепи, кратной трем, то сдвига рамки считывания информации не происходит (**«делеция или вставка без сдвига рамки считывания информации»**). Белок, который зашифрован такой матрицей, будет либо укорочен (при делеции), либо удлинен (при вставке) на одну или несколько аминокислот.

В большинстве случаев мутации влияют на экспрессию или структуру генов, что проявляется в снижении количества или в изменении структуры белкового продукта, а следовательно, и его функциональной активности. Иногда снижение или полное отсутствие белка является результатом мутаций в регуляторных участках генов (области CpG-островков в промоторах).

Мутации в **половых клетках** передаются по наследству и могут проявляться в фенотипе потомства в виде наследственной болезни, связанной со структурным и функциональным изменением белка. Мутации в соматических клетках вызывают, как правило, различные функциональные нарушения.

Амплификация генов, независимые мутации в копиях и рекомбинации приводят к дивергенции (расхождению) свойств соответствующих белков. Результатом этих процессов является изменение генома в филогенезе и образование семейств родственных белков.

Аллельные варианты одного гена, занимающие в хромосомах гомологичные локусы, кодируют белки с близкой аминокислотной последовательностью и функциями — **полиморфные разновидности одного и того же белка**. Каждый индивидуум может иметь только два варианта любого белка, тогда как в популяции число вариантов может быть огромно. Так, по всем аллелям HbA популяция людей образует более 600 генетически различающихся групп. Полиморфизм белков настолько велик, что можно говорить о биохимической индивидуальности каждого человека.

Геномы всех людей, за исключением однояйцовых близнецов, различны.

Этнические и индивидуальные различия геномов обусловлены мутациями, приводящими к генетическому полиморфизму.

Генетический полиморфизм может быть качественным, когда происходят замены нуклеотидов, либо количественным, когда в ДНК варьирует число нуклеотидных повторов различной протяженности. Генетический полиморфизм встречается как в интронных, так и в экзонных последовательностях молекулы ДНК.

Поскольку наша внешняя и внутренняя индивидуальность — продукт деятельности наших генов, то можно утверждать, что существует большая вариабельность человеческих геномов. Генетический полиморфизм характеризуется на молекулярном уровне небольшими отклонениями в нуклеотидных последовательностях ДНК, которые совместимы с нормальной функцией организма в онтогенезе, но приводят к определенным вариациям в структуре белков и таким образом формируют биохимическую индивидуальность каждой личности.

Все люди отличаются друг от друга индивидуальными реакциями на внешние факторы окружающей среды, инфекции, особенности диеты, токсины и лекарственные препараты. Все это — результат множественного полиморфизма, связанного с наличием множественных форм (изоформ) ферментов детоксикации. У некоторых людей проявляется непереносимость лактозы (неспособность употреблять свежее молоко), повышенная чувствительность к соланину — гликозиду клубней зеленого картофеля, ингибирующему фермент псевдохолинэстеразу. Существуют этнические различия в чувствительности к алкоголю, обусловленные высоким уровнем мутаций *в гене алкогольдегидрогеназы у лиц монголоидной расы. Известны семьи*, предрасположенные к диабету, атеросклерозу, заболеваниям легких, сердца, почек, психическим отклонениям или с высокой склонностью к онкологии (результат полиморфизма ферментов детоксикации, рецепторов и белков, регулирующих клеточный цикл).

Эти различия между людьми являются результатом генетического разнообразия человека, т.е. наличия у каждого из нас неповторимого набора генов (генома), составляющего наследственную основу биохимической индивидуальности человека и проявляющегося при определенных условиях окружающей среды.

ТЕМА 3.10. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ДНК В МЕДИЦИНЕ

Для изучения генетической неоднородности специфическую ДНК, содержащую информацию об интересующем нас гене или его фрагменте, необходимо выделить из соответствующего источника и получить в достаточном для исследования количестве. Ген или его фрагмент получают, используя:

- **обратные транскриптазы** — ферменты ретровирусов, которые катализируют синтез ДНК на матрице мРНК;
- **химический синтез**, позволяющий на автоматическом синтезаторе получать одноцепочечные фрагменты ДНК с заданной последовательностью и длиной до 100 нуклеотидов;

- **рестриктазы** — бактериальные ферменты из группы эндонуклеаз. Они «узнают» короткую специфическую последовательность нуклеотидов в ДНК длиной в 4–6, реже в 8–12 пар оснований и расщепляют обе нити. В настоящее время из бактериальных источников выделены сотни рестриктаз с разной субстратной специфичностью. Расщепление обеих нитей ДНК может происходить двояким путем — с образованием двухцепочечных («тупых») или одноцепочечных («липких») концов.

Синтез рекомбинантных ДНК. Образованные с помощью рестриктаз фрагменты гена, имеющие «липкий» конец, могут по принципу комплементарности взаимодействовать с «липким» концом другого, не родственного ему фрагмента ДНК, который может принадлежать бактериофагу, вирусу или плазмиде и получаться при действии на ДНК той же самой рестриктазы (рис. 3.27). Фрагменты ковалентно соединяют друг с другом с помощью фермента ДНК-лигазы и получают рекомбинантные (или гибридные) ДНК.

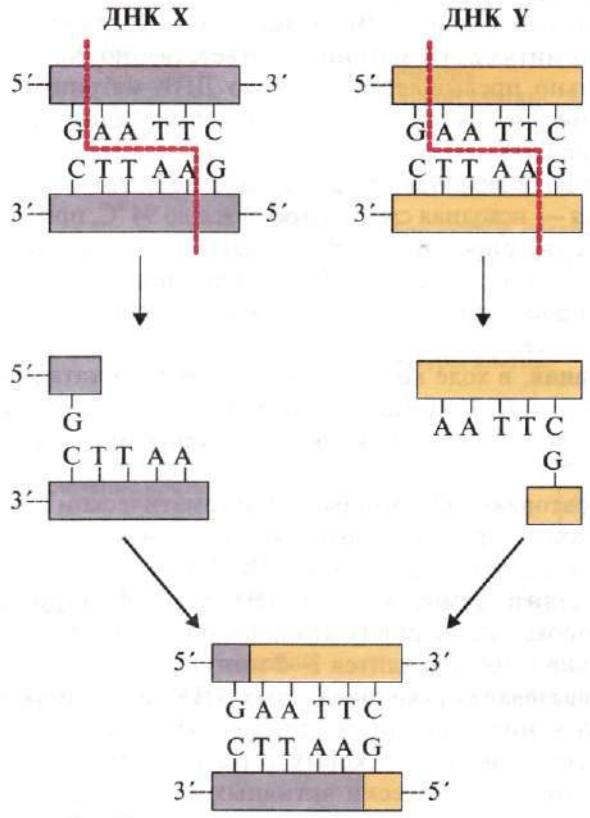


Рис. 3.27. Образование молекул рекомбинантной ДНК с помощью рестриктаз и ДНК-лигазы:

ДНК X и ДНК Y — две молекулы ДНК из различных источников; Eco RI — бактериальная рестрикционная эндонуклеаза

Клонирование ДНК. Методика клонирования и размножения рекомбинантной ДНК в бактериях позволяет получить интересующие нас продукты: ДНК, РНК или белки в достаточно больших количествах (рис. 3.28). *Бактериофаги, бактериальные плазмиды — экстрахромосомные кольцевые* ДНК — используются в качестве векторов, с помощью которых чужеродный ген вносится в бактерию, где обеспечивается его репликация, транскрипция и трансляция с образованием нужного белкового продукта.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — метод амплификации, т.е. получения большого числа копий интересующего нас гена или его фрагмента в условиях *in vitro*. Реакционная смесь для получения интересующей нас ДНК содержит: исследуемую ДНК-матрицу, субстраты реакции — четыре дНТФ (дАТФ, дГТФ, дТТФ, дЦТФ), два праймера, термостабильную Taq-полимеразу и реакционный буфер, содержащий ионы Mg^{2+} в качестве кофактора.

Праймеры — это искусственно синтезированные короткие однонитевые ДНК (20—30 нуклеотидов), выполняющие функцию «затравок» при ферментативном синтезе ДНК. В ПЦР обычно используют два праймера, которые комплементарны 3′-концевым последовательностям амплифицируемого участка на обеих нитях ДНК-матрицы соответственно. Концентрация праймеров значительно превышает количество ДНК-матрицы в реакционной смеси. Расстояние между праймерами определяет длину синтезируемых в ПЦР фрагментов ДНК.

В один цикл ПЦР включается три этапа (рис. 3.29):

- **денатурация** — исходная смесь нагревается до 94 °С, при этом имеет место разрушение двуспиральной структуры ДНК и расхождение цепей;
- **отжиг** — на этом этапе температура реакционной смеси снижается до 52—60 °С и происходит комплементарное связывание праймеров с нитями матричной ДНК;
- **полимеризация**, в ходе которой Taq-полимераза катализирует удлинение праймеров (с 3′-конца) и синтез новых цепей ДНК. Температура смеси для проявления оптимальной активности Taq-полимеразы соответствует 72 °С.

Эти этапы повторяются многократно в автоматическом приборе — амплификаторе (термоциклере), что позволяет получить огромное количество копий интересующего нас фрагмента ДНК. Так, в результате проведения 20 циклов ПЦР анализируемый участок ДНК амплифицируется более чем в миллион раз. Продолжительность каждого этапа цикла ПЦР определяется экспериментально и обычно длится 1—2 минуты.

Механизм образования рекомбинантных ДНК дает возможность:

- использовать микроорганизмы в качестве продуцентов необходимых для человека веществ: белковых гормонов (инсулин, гормон роста, соматостатин), биологически активных пептидов, вакцин (например, против гепатита С), факторов, участвующих в свертывании крови (фактор VIII для лечения гемофилии);
- создавать новые полезные для человека формы растений и животных;
- предпринимать попытки лечения наследственных болезней путем введения в клетки нормальных копий дефектных генов.

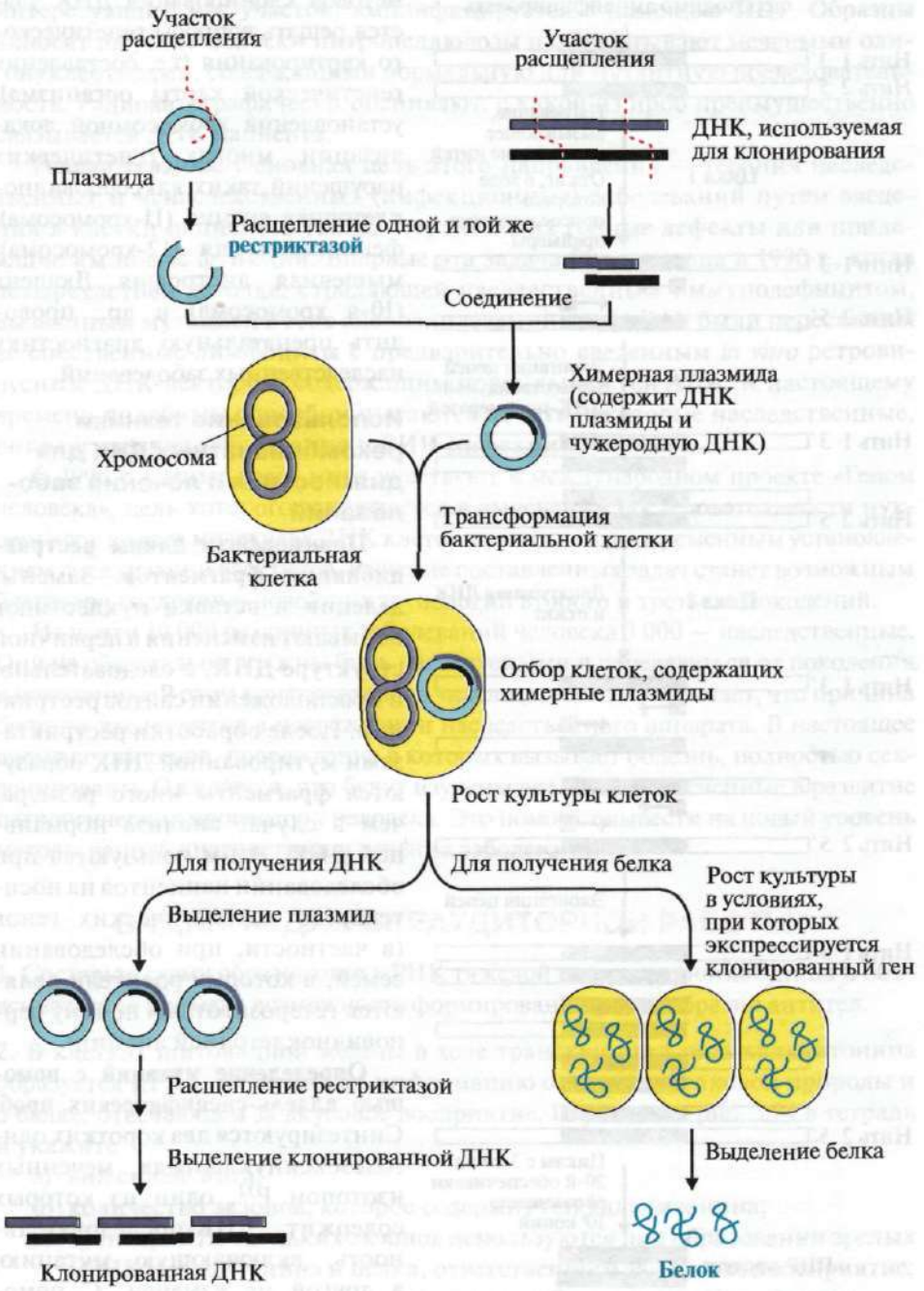


Рис. 3.28. Клонирование ДНК в бактериальных клетках

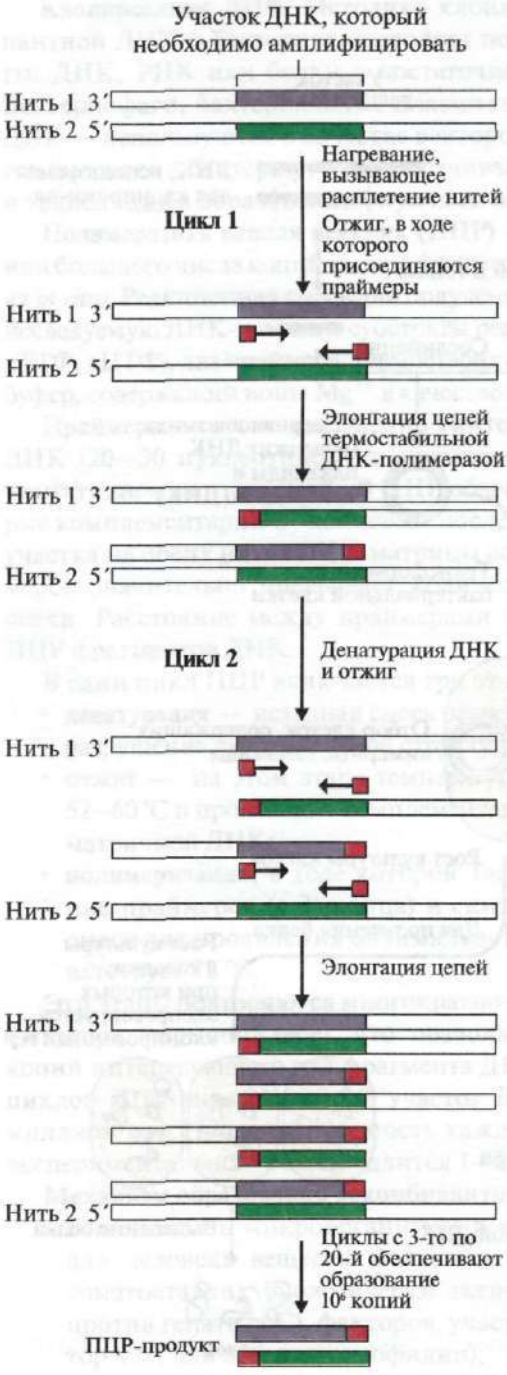


Рис. 3.29. Полимеразная цепная реакция

Благодаря использованию методов клонирования ДНК удается решать вопросы генетического картирования (т.е. составления генетической карты организма), установления хромосомной локализации многих генетических нарушений, таких, как серповидноклеточная анемия (11-хромосома), фенилкетонурия (12-хромосома), мышечная дистрофия Дюшена (10-я хромосома) и др., проводить пренатальную диагностику наследственных заболеваний.

Использование техники рекомбинанатных ДНК для диагностики и лечения заболеваний

Полиморфизм длины рестрикционнных фрагментов. Замены, делеции и вставки нуклеотидов вызывают изменения в первичной структуре ДНК, а следовательно, и в расположении сайтов рестрикции. После обработки рестриктазами мутированной ДНК образуются фрагменты иного размера, чем в случае анализа нормальной ДНК. Этим пользуются при обследовании пациентов на носительство патологических генов (в частности, при обследовании семей, в которых родители являются гетерозиготами по гену серповидноклеточной анемии).

Определение мутаций с помощью аллель-специфических проб. Синтезируются два коротких олигодезоксинуклеотида, меченных изотопом P^{32}, один из которых содержит ДНК-последовательность, включающую мутацию, а другой не изменен. С помощью этих аллель-специфических проб ДНК пациентов проверяют

на носительство исследуемой мутации. Для этого область гена, содержащая интересующий нас участок, амплифицируется с помощью ПЦР. Образцы наносят на узкие полоски нитроцеллюлозы и обрабатывают мечеными олигонуклеотидами, содержащими нормальную или мутантную последовательность. Радиоавтографически оценивают, с какой из проб преимущественно связывается ДНК пациента.

Генная терапия. Основная цель этого направления — терапия наследственных и ненаследственных (инфекционных) заболеваний путем введения в клетки пациентов генов, устраняющих генные дефекты или придающие им новые функции. Впервые эта задача была решена в 1990 г., когда четырехлетней девочке, страдающей наследственным иммунодефицитом, вызванным мутацией в гене аденозиндезаминазы (АДА), были пересажены ее собственные лимфоциты с предварительно введенным *in vitro* ретровирусным ДНК-вектором, содержащим нормальный ген АДА. К настоящему времени подобным способом пытаются лечить некоторые наследственные, онкологические заболевания и ВИЧ-инфекции.

С 1990 г. ученые всего мира участвуют в международном проекте «Геном человека», цель которого заключается в выяснении последовательности нуклеотидов во всех молекулах ДНК клеток человека с одновременным установлением локализации всех генов. Решение поставленных задач станет возможным благодаря внедрению новейших технологий второго и третьего поколений.

Из почти 10 000 различных заболеваний человека 3 000 — наследственные. Они не обязательно должны быть наследуемыми и передаваться от поколения к поколению. В этом контексте слово «наследственные» означает, что причина болезни заключается в повреждении наследственного аппарата. В настоящее время сотни генов, повреждение в которых вызывает болезнь, полностью секвенированы. Ожидается, что будут изучены все гены, вовлеченные в развитие патологических процессов у человека. Это поможет вывести на новый уровень методы ранней диагностики и лечения заболеваний.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Составьте схему образования мРНК тяжелой цепи иммуноглобулина и объясните на ее примере возможность формирования многообразия антител.

2. В клетках щитовидной железы в ходе транскрипции гена кальцитонина образуется мРНК, содержащая информацию о гормоне белковой природы и о белке, отвечающем за вкусовое восприятие. Перенесите рис. 3.24 в тетрадь и укажите:

а) вид сплайсинга;
б) количество экзонов, которое содержит ген кальцитонина;
в) транскрипты скольких экзонов используются при образовании зрелых мРНК кальцитонина и белка, ответственного за вкусовое восприятие;
г) количество экзонов гена, являющихся общими для обоих белков;
д) рибонуклеопротеины, обеспечивающие механизм образования разных зрелых мРНК из одной пре-мРНК.

3. Заполните табл. 3.12. В соответствующих столбцах укажите кратко словами, к чему может привести та или иная мутация. Например, при мутации «замена нуклеотида» структура белка не изменена, если «образовавшийся триплет кодирует ту же аминокислоту».

Таблица 3.12. Влияние мутаций на структуру синтезируемого белка

Характер мутации	Структура белка не изменена	Структура белка изменена	Полноразмерный белок не образуется
1. Замена нуклеотида			
2. Делеция			
3. Вставка			

4. Фрагмент транскрибируемой нити ДНК

$$3' — .... — G_1A_2G_3 — T_4T_5C_6 — A_7 ... — 5'$$

кодирует участок полипептидной цепи со следующей последовательностью аминокислот:

$$H_2N ... — Лей — Лиз — ... COOH.$$

Определите, какие изменения произойдут в данном белке при следующих мутациях:

а) замена C_6 на T;
б) замена T_4 на C;
в) замена T_4 на A;
г) вставка C между G_1 и A_2;
д) делеция A_2.

Для этого:

1) запишите последовательность нуклеотидов во фрагментах полученных мутантных ДНК в пп. а–д;
2) определите последовательность нуклеотидов в мРНК, которая синтезируется на мутантных ДНК;
3) пользуясь таблицей биологического кода, установите последовательность аминокислот в пептиде, закодированном в мутантных мРНК, и сделайте вывод об изменениях структуры мутантных белков по сравнению с исходной молекулой;
4) для каждого из полученных белков предположите возможную функциональную активность, выбрав соответствующие буквы:
   А. Не изменится
   Б. Может возрасти
   В. Может снизиться
   Г. Может полностью утратиться
   Ответ может быть неоднозначным.

5. Используя рис. 3.28, выпишите последовательность событий процесса, приводящего к образованию рекомбинантных ДНК. Объясните роль рестриктаз и ДНК-лигазы в этом процессе (см. также рис. 3.27).

6. Познакомьтесь с методом проведения полимеразной цепной реакции. Выпишите принцип метода и схему ПЦР. Укажите значение данного метода.

7. Реакционную смесь для ПЦР помещают в амплификатор, где в разные периоды инкубации происходят повторяющиеся изменения температурного режима: 55 °С, 72 °С и 92 °С. Объясните, какую функцию выполняет процесс выдерживания реакционной смеси при 92 °С.

8. Опишите стадии одного цикла ПЦР и объясните физический смысл каждой стадии.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

Различия в наборе белков, синтезирующихся в разных органах и тканях организма, обусловлены тем, что:

А. Геном разных типов клеток одинаков, но функционально активны разные гены

Б. Стойко репрессированные гены могут активироваться под воздействием факторов внешней и внутренней среды

В. Первичные транскрипты генов подвергаются альтернативному сплайсингу

Г. Участки «активного» хроматина различны в разных клетках.

Д. Дифференцировка некоторых клеток сопровождается перестройкой генов

2. Выберите правильные утверждения и установите порядок событий при образовании Н-цепи иммуноглобулина М:

А. Образуется полный ген вариабельной части из сегментов V_i, D_x, J_y.

Б. Сегменты D_x и J_y соединяются в результате соматической рекомбинации

В. Связывание V_i с D_x J_y сопровождается удалением протяженной нуклеотидной последовательности

Г. При соединении полного вариабельного гена с C_μ-сегментом происходит третья соматическая рекомбинация

Д. Первичный транскрипт полного гена Н цепи IgM подвергается созреванию (процессингу)

3. Установите соответствие.

Мутации:

А. Миссенс-мутация

Б. Нонсенс-мутация

В. Делеция без сдвига рамки считывания информации

Г. Вставка со сдвигом рамки считывания информации

Д. Вставка без сдвига рамки считывания информации

Изменения в структуре белка:

1. Укорочение белка на одну или несколько аминокислот
2. Синтез белка, лишенного С-концевого фрагмента молекулы
3. Образование белкового продукта со случайной последовательностью аминокислот за местом мутации

4. Выберите правильные ответы.

Использование метода ПЦР позволяет:

А. Идентифицировать мутации в структуре ДНК
Б. Получать участок ДНК в количествах, достаточных для дальнейших исследований
В. Идентифицировать чужеродные гены при инфицировании организма вирусами и патогенными организмами
Г. Устанавливать генетическое родство организмов
Д. Установить принадлежность гена к эу- или гетерохроматину

5. Выберите правильные ответы.

Делеция одного нуклеотида может привести к следующим последствиям:

А. Укорочение полипептидной цепи на одну аминокислоту
Б. Удлинение белка на одну аминокислоту
В. Синтез незавершенной молекулы белка
Г. Синтез белка со «случайной» последовательностью аминокислот на участке за местом мутации
Д. Синтез белка с одной измененной аминокислотой

6. Выберите правильные ответы.

Рестриктазы:

А. Отщепляют 5′-концевые нуклеотиды от двуспиральной ДНК
Б. Осуществляют сайт-специфический разрез в обеих нитях ДНК
В. Используют для получения рекомбинантных ДНК
Г. Образуют 3-гидроксильные и 5-фосфатные концы в молекуле ДНК
Д. Могут расщеплять обе нити ДНК с образованием одноцепочечных «липких» концов

7. Выберите правильные ответы.

Использование термоциклера (амплификатора) в методе ПЦР позволяет:

А. Поддерживать определенный температурный режим
Б. Автоматизировать процесс
В. Денатурировать ДНК
Г. Получать миллионы копий исследуемой ДНК за 1—2 часа
Д. Использовать термостабильную ДНК-полимеразу

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. А, В, Г, Д
2. Б→В→А→Д
3. 1-В, 2-Б, 3-Г
4. А, Б, В, Г
5. В, Г
6. Б, В, Г, Д
7. А, Б, В, Г, Д

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Дифференцировка клеток как результат стойкой репрессии отдельных генов
2. Соматические рекомбинации в процессе образования генов иммуноглобулинов
3. Типы мутаций
4. Полиморфизм белков
5. Наследственные болезни как результат полиморфизма белков
6. Рестрикция ДНК
7. Синтез рекомбинантных ДНК
8. Клонирование ДНК
9. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)
10. Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов
11. Определение мутаций с помощью аллель-специфических проб
12. Генная терапия

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. На поверхности В-лимфоцитов располагаются иммуноглобулины, гидрофобный домен которых пронизывает плазматическую мембрану. Когда определенная группа (клон) В-лимфоцитов активируется и превращается в плазматические клетки, в них начинается синтез секреторных форм иммуноглобулинов. Изучив схему синтеза матриц мРНК, мембранных и секреторных форм Ig (см. рис. 3.26), определите, какой механизм лежит в основе изменения структуры этих белков. Для этого объясните, где в клетке и на какой стадии реализации информации произошли изменения в структуре матриц.

2. В структурном гене соматической клетки произошла делеция 25 нуклеотидов. Объясните:

а) наблюдается ли в этом случае в ходе трансляции сдвиг рамки считывания информации гена;

б) может ли такая мутация быть причиной наследственной болезни.

3. В яйцеклетке в смысловой части гена фермента оксигеназы гомогентизиновой кислоты произошла замена 7-го нуклеотида с образованием терминирующего кодона. Объясните, какие изменения в структуре белка произойдут в ходе трансляции мутантного гена. К каким фенотипическим проявлениям приведет эта мутация?

4. Фермент глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа встречается в популяции людей в двух вариантах, которые различаются по одной аминокислоте: в одном из вариантов аминокислота Асп заменена на Асн. Определите, какие изменения в кодоне гена этого фермента привели к появлению указанных вариантов. Для этого:

а) объясните, что такое полиморфизм белков;

б) укажите, являются ли описанные варианты ферментов примером этого явления;

в) запишите состав кодонов Асп и Асн.

5. Белковый ингибитор многих протеаз α-2-антитрипсин представлен в человеческой популяции четырьмя аллельными вариантами A, B, C и D. Определите, на какие генетически различные группы можно разделить всех людей по этому признаку.

6. Мутация, которая вызывает серповидно-клеточную анемию (СКА), при расщеплении ферментом MstII гена β-глобина приводит к исчезновению сайта рестрикции. В мутантной ДНК рестрикционный фрагмент, образующийся под действием MstII и включающий 5′-конец β-глобинового гена будет больше для пациентов со СКА [1,3 тыс. пар нуклеотидов (т.п.н.)], чем для здоровых людей (1,1 т.п.н.). В связи с этим:

а) покажите, как будут располагаться фрагменты рестрикции на электрофореграмме для пациента, являющегося гетерозиготой по гену СКА (дорожка X), если известно, что на электрофореграмме (рис. 3.30) фрагменты рестрикции гена β-глобина здорового человека и гомозиготного пациента по СКА дают по одной полосе;

б) исходя из данных задачи, определите, какая из дорожек соответствует рестрикционному фрагменту здорового человека, а какая — больного.

7. Из-за небрежности медицинской сестры в одном из роддомов принадлежность роженицам двух детей не была своевременно отмечена. Чтобы найти истинных родителей, возникла необходимость исследовать ДНК детей и родителей методом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ). У обследуемых была взята кровь, из лейкоцитов экстрагировали ДНК и провели ПЦР. Полученную ДНК обработали рестриктазой и образующиеся фрагменты разделили с помощью гель-электрофореза. На электрофореграмме продукты рестрикции обнаруживали с помощью радиоактивно меченых олигонуклеотидов, которые специфически связывались с участками фрагментов ДНК, полученных при рестрикции. Рассмотрите электрофореграмму (рис. 3.31) и определите, какой из

родительских пар принадлежат дети P_x и P_y, если M_a и O_a — мать и отец из одной супружеской пары, а M_b и O_b — из другой.

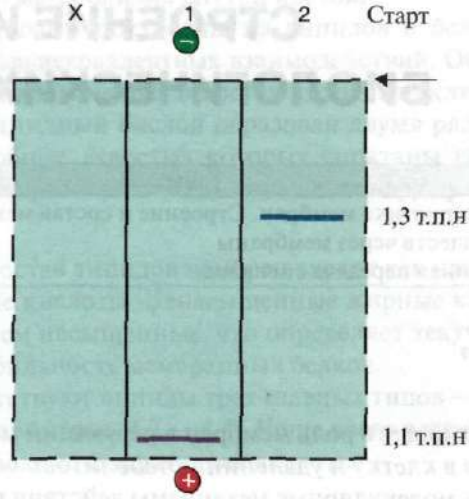


Рис. 3.30. Электрофореграмма продуктов расщепления гена β-глобина, образующихся под действием MstII рестриктазы

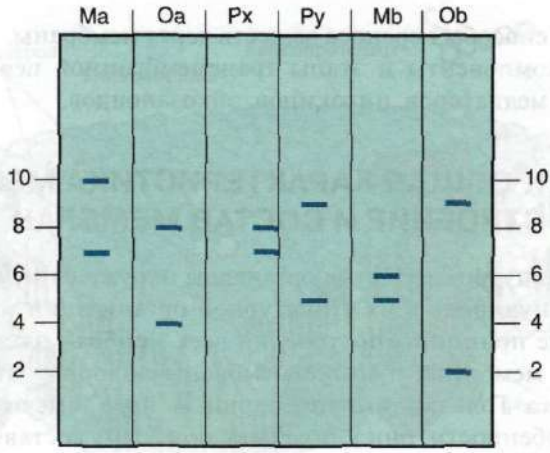


Рис. 3.31. Электрофореграмма продуктов рестрикции:

2–10 — размер ДНК-фрагментов, т.п.н.

Модуль 4

СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН

Темы
4.1. Общая характеристика мембран. Строение и состав мембран
4.2. Транспорт веществ через мембраны
4.3. Трансмембранная передача сигналов

Цели изучения

Уметь:

1. Интерпретировать роль мембран в регуляции метаболизма, транспорте веществ в клетку и удалении метаболитов.
2. Объяснять молекулярные механизмы действия гормонов и других сигнальных молекул на органы-мишени.

Знать:

1. Строение биологических мембран и их роль в обмене веществ и энергии.
2. Основные способы переноса веществ через мембраны.
3. Главные компоненты и этапы трансмембранной передачи сигналов гормонов, медиаторов, цитокинов, эйкозаноидов.

ТЕМА 4.1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕМБРАН. СТРОЕНИЕ И СОСТАВ МЕМБРАН

Все клетки и внутриклеточные органеллы окружены мембранами, которые играют важную роль в их структурной организации и функционировании. Основные принципы построения всех мембран одинаковы. Однако плазматическая мембрана, а также мембраны эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи, митохондрий и ядра имеют существенные структурные особенности, они уникальны по своему составу и по характеру выполняемых функций.

Мембраны:

- отделяют клетки от окружающей среды и делят ее на компартменты (отсеки);
- регулируют транспорт веществ в клетки и органеллы и в обратном направлении;
- обеспечивают специфику межклеточных контактов;
- воспринимают сигналы из внешней среды.

Согласованное функционирование мембранных систем, включающих рецепторы, ферменты, транспортные системы, помогает поддерживать гомеостаз клетки и быстро реагировать на изменения состояния внешней среды путем регуляции метаболизма внутри клеток.

Биологические мембраны построены из липидов и белков, связанных друг с другом с помощью **нековалентных** взаимодействий. Основу мембраны составляет **двойной липидный слой**, в состав которого включены белковые молекулы (рис. 4.1). Липидный бислой образован двумя рядами **амфифильных** молекул, гидрофобные «хвосты» которых спрятаны внутрь, а гидрофильные группы — полярные «головки» обращены наружу и контактируют с водной средой.

1. Липиды мембран. В состав липидов мембран входят как насыщенные, так и ненасыщенные жирные кислоты. Ненасыщенные жирные кислоты встречаются в два раза чаще чем насыщенные, что определяет **текучесть** мембран и конформационную лабильность мембранных белков.

В мембранах присутствуют липиды трех главных типов — фосфолипиды, гликолипиды и холестерол (рис. 4.2 — 4.4). Чаще всего встречаются **глицерофосфолипиды — производные фосфатидной кислоты**.

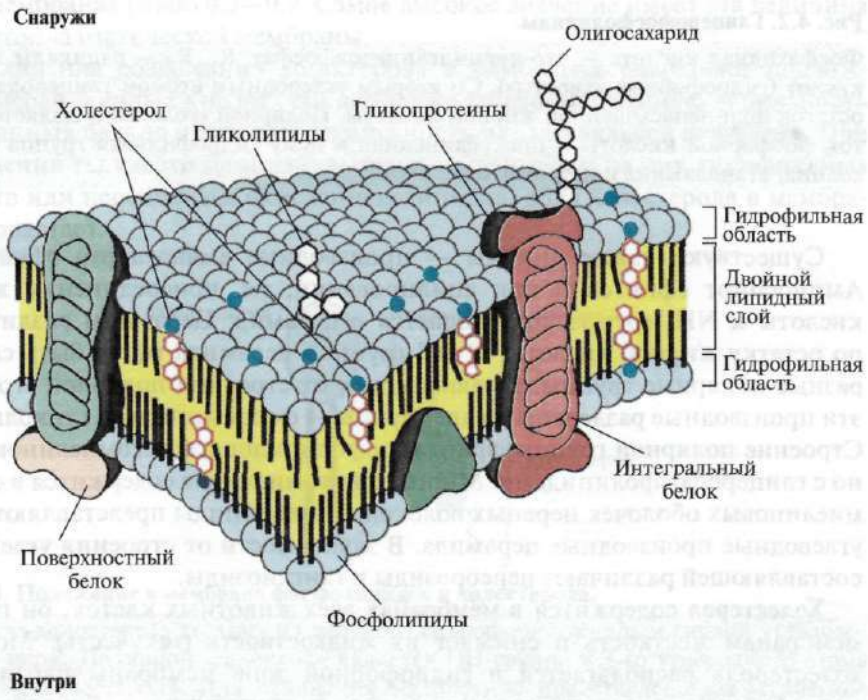


Рис. 4.1. Поперечный разрез плазматической мембраны

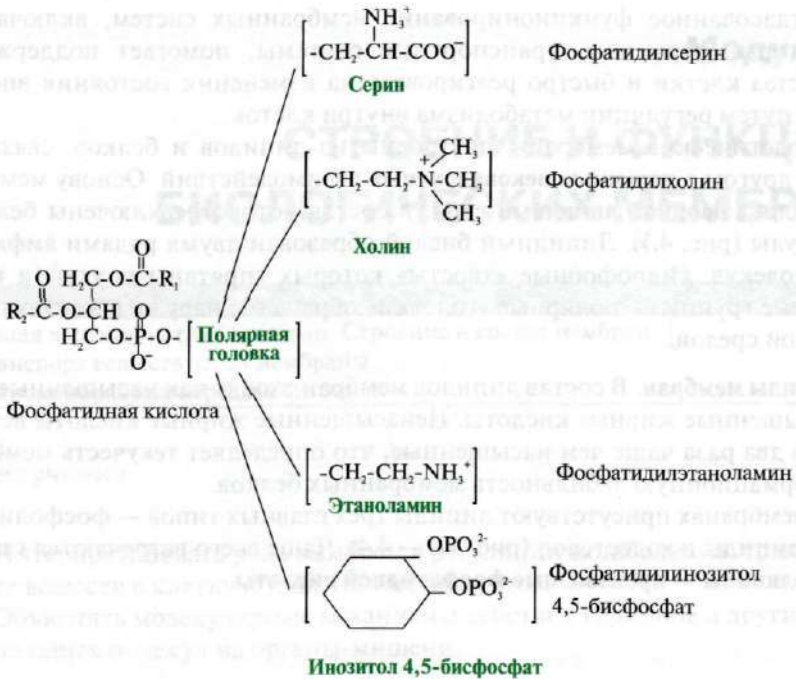


Рис. 4.2. Глицерофосфолипиды.

Фосфатидная кислота — это диацилглицеролфосфат. R_1, R_2 — радикалы жирных кислот (гидрофобные «хвосты»). Со вторым углеродным атомом глицерола связан остаток полиненасыщенной жирной кислоты. Полярной «головкой» является остаток фосфорной кислоты и присоединенная к нему гидрофильная группа серина, холина, этаноламина или инозитола

Существуют также липиды — производные **аминоспирта сфингозина**. Аминоспирт сфингозин при ацилировании, т.е. присоединении жирной кислоты к NH_2-группе, превращается в церамид. Церамиды различаются по остатку жирной кислоты. С ОН-группой церамида могут быть связаны разные полярные группы. В зависимости от строения полярной «головки» эти производные разделены на две группы — фосфолипиды и гликолипиды. Строение полярной группы сфингофосфолипидов (сфингомиелинов) сходно с глицерофосфолипидами. Много сфингомиелинов содержится в составе миелиновых оболочек нервных волокон. Гликолипиды представляют собой углеводные производные церамида. В зависимости от строения углеводной составляющей различают цереброзиды и ганглиозиды.

Холестерол содержится в мембранах всех животных клеток, он придает мембранам жесткость и снижает их **жидкостность** (текучесть). Молекула холестерола располагается в гидрофобной зоне мембраны параллельно гидрофобным «хвостам» молекул фосфо- и гликолипидов. Гидроксильная группа холестерола, как и гидрофильные «головки» фосфо- и гликолипидов,

Рис. 4.3. Производные аминоспирта сфингозина.

Церамид — ацилированный сфингозин (R_1 — радикал жирной кислоты). К фосфолипидам относятся сфингомиелины, у которых полярная группа состоит из остатка фосфорной кислоты и холина, этаноламина или серина. Гидрофильной группой (полярной «головкой») гликолипидов является углеводный остаток. Цереброзиды содержат моно- или олигосахаридный остаток линейного строения. В состав ганглиозидов входит разветвленный олигосахарид, одним из мономерных звеньев которого является НАНК — N-ацетилнейраминовая кислота

обращена к водной фазе. Молярное соотношение холестерола и других липидов в мембранах равно 0,3—0,9. Самое высокое значение имеет эта величина для цитоплазматической мембраны.

Увеличение содержания холестерола в мембранах уменьшает подвижность цепей жирных кислот, что влияет на конформационную лабильность мембранных белков и снижает возможность их **латеральной диффузии**. При повышении текучести мембран, вызванном действием на них липофильных веществ или перекисным окислением липидов, доля холестерола в мембранах возрастает.

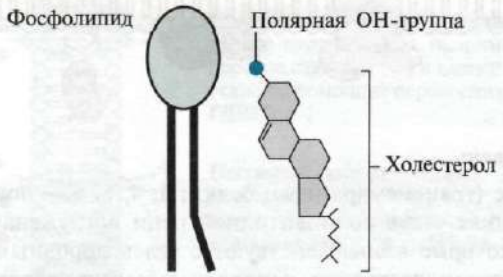


Рис. 4.4. Положение в мембране фосфолипидов и холестерола.

Молекула холестерола состоит из жесткого гидрофобного ядра и гибкой углеводородной цепи. Полярной «головкой» является ОН-группа у 3-го углеродного атома молекулы холестерола. Для сравнения на рисунке представлено схематическое изображение фосфолипида мембран. Полярная головка этих молекул значительно больше и имеет заряд

Липидный состав мембран различен, содержание того или другого липида, по-видимому, определяется разнообразием функций, которые выполняют эти молекулы в мембранах.

Главные функции липидов мембран состоят в том, что они:

- формируют липидный бислой — структурную основу мембран;
- обеспечивают необходимую для функционирования мембранных белков среду;
- участвуют в регуляции активности ферментов;
- служат «якорем» для поверхностных белков;
- участвуют в передаче гормональных сигналов.

Изменение структуры липидного бислоя может привести к нарушению функций мембран.

2. Белки мембран. Белки мембран различаются по своему положению в мембране (рис. 4.5). Мембранные белки, контактирующие с гидрофобной областью липидного бислоя, должны быть амфифильными, т.е. иметь неполярный домен. Амфифильность достигается благодаря тому, что:

- аминокислотные остатки, контактирующие с липидным бислоем, в основном неполярны;
- многие мембранные белки ковалентно связаны с остатками жирных кислот (ацилированы).

Ацильные остатки жирных кислот, присоединенные к белку, обеспечивают его «заякоревание» в мембране и возможность латеральной диффузии. Кроме того, белки мембран подвергаются таким посттрансляционным модификациям, как гликозилирование и фосфорилирование. Гликозилирование наружной поверхности интегральных белков защищает их от повреждения протеазами межклеточного пространства.

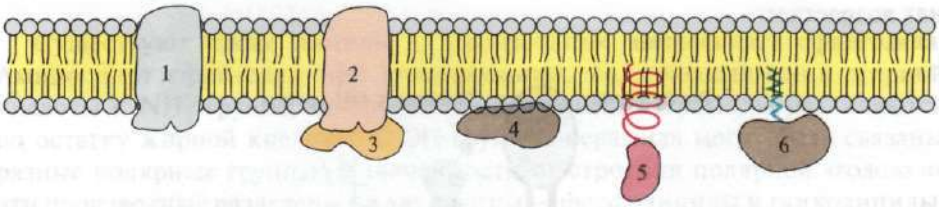


Рис. 4.5. Белки мембран:

1, 2 — интегральные (трансмембранные) белки; 3, 4, 5, 6 — поверхностные белки. В интегральных белках часть полипептидной цепи погружена в липидный слой. Те участки белка, которые взаимодействуют с углеводородными цепями жирных кислот, содержат преимущественно неполярные аминокислоты. Участки белка, находящиеся в области полярных «головок», обогащены гидрофильными аминокислотными остатками. Поверхностные белки разными способами прикрепляются к мембране: 3 — связанные с интегральными белками; 4 — присоединенные к полярным «головкам» липидного слоя; 5 — «заякоренные» в мембране с помощью короткого гидрофобного концевого домена; 6 — «заякоренные» в мембране с помощью ковалентно связанного ацильного остатка

Наружный и внутренний слои одной и той же мембраны различаются по составу липидов и белков. Эта особенность в строении мембран называется **трансмембранней асимметрией.**

Белки мембран могут участвовать в:

- избирательном транспорте веществ в клетку и из клетки;
- передаче гормональных сигналов;
- образовании «окаймленных ямок», участвующих в эндоцитозе и экзоцитозе;
- иммунологических реакциях;
- качестве ферментов в превращениях веществ;
- организации межклеточных контактов, обеспечивающих образование тканей и органов.

ТЕМА 4.2. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ

Одна из главных функций мембран — регуляция переноса веществ в клетку и из клетки, удержание веществ, которые нужны клетке и выведение ненужных. Транспорт ионов, органических молекул через мембраны может проходить по градиенту концентрации — **пассивный транспорт** и против градиента концентрации — **активный транспорт.**

1. Пассивный транспорт может осуществляться следующими способами (рис. 4.6, 4.7):

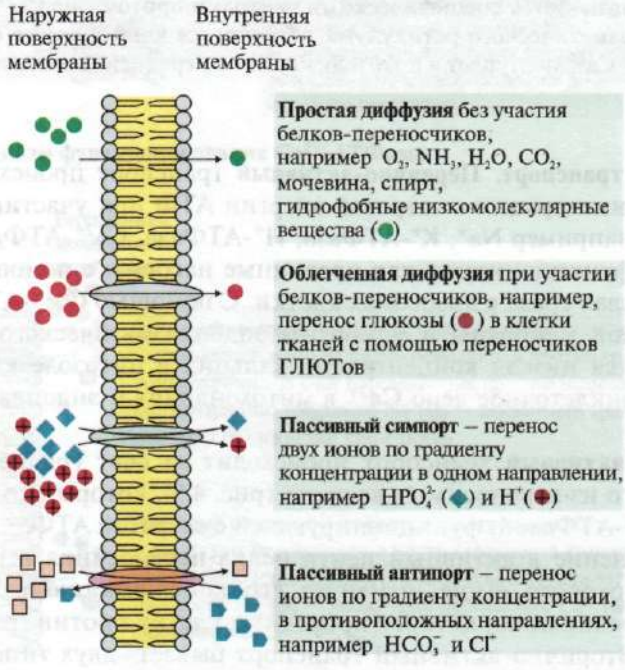


Рис. 4.6. Механизмы переноса веществ через мембраны по градиенту концентрации

К пассивному транспорту относится **диффузия ионов по белковым каналам**, например диффузия H^+, Ca^{2+}, Na^+, K^+. Функционирование большинства каналов регулируется специфическими лигандами или изменением трансмембранного потенциала.

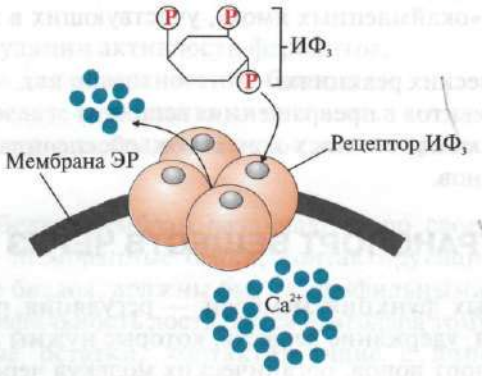


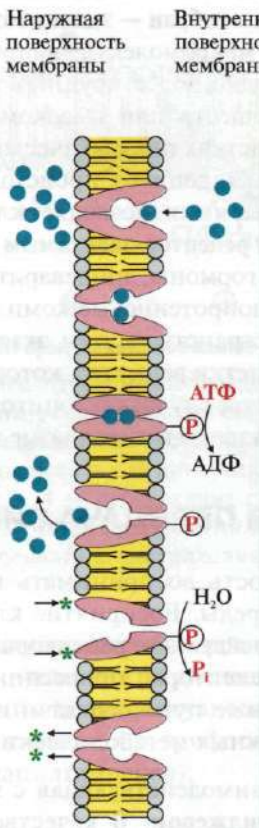
Рис. 4.7. Ca^{2+}-канал мембраны эндоплазматического ретикулума, регулируемый инозитол-1,4,5-трифосфатом (ИФ$_3$).

ИФ$_3$ (инозитол-1,4,5-трифосфат) образуется при гидролизе мембранного липида ФИФ$_2$ (фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата) под действием фермента фосфолипазы С. ИФ$_3$ связывается специфическими центрами протомеров Ca^{2+}- канала мембраны эндоплазматического ретикулума. Изменяется конформация белка и канал открывается — Ca^{2+} поступает в цитозоль клетки по градиенту концентрации

2. Активный транспорт. Первично-активный транспорт происходит против градиента концентрации с затратой энергии АТФ при участии транспортных АТФаз, например Na^+, K^+-АТФаза, H^+-АТФаза, Ca^{2+}-АТФаза (рис. 4.8). H^+-АТФазы функционируют как протонные насосы, с помощью которых создается кислая среда в лизосомах клетки. С помощью Ca^{2+}-АТФазы цитоплазматической мембраны и мембраны эндоплазматического ретикулума поддерживается низкая концентрация кальция в цитозоле клетки и создается внутриклеточное депо Ca^{2+} в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме.

Вторично-активный транспорт происходит за счет градиента концентрации одного из переносимых веществ (рис. 4.9), который создается чаще всего Na^+, K^+-АТФазой, функционирующей с затратой АТФ.

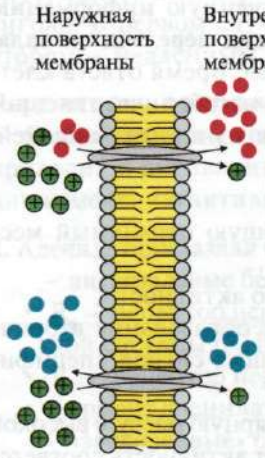
Присоединение в активный центр белка-переносчика вещества, концентрация которого выше, изменяет его конформацию и увеличивает сродство к соединению, которое проходит в клетку против градиента концентрации. Вторично-активный транспорт бывает двух типов: **активный симпорт** и **антипорт**.



С помощью Ca^{2+}-АТФазы цитоплазматической мембраны и мембраны эндоплазматического ретикулума поддерживается низкая концентрация кальция в цитозоле клетки и создается внутриклеточное депо Ca^{2+} в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме.

Связывание двух ионов кальция (●) в центрах Ca^{2+}-АТФазы, обращенных в цитозоль, приводит к изменению заряда и конформации Ca^{2+}-АТФазы. Повышается сродство фермента к АТФ и активируется аутофосфорилирование. Присоединение фосфорного остатка (Ⓟ) сопровождается конформационными изменениями, Ca^{2+}-АТФаза закрывается с внутренней стороны мембраны и открывается с наружной. Снижается сродство центров связывания к Ca^{2+} и они отделяются от фермента. Аутодефосфорилирование активируется ионами Mg^{2+}(*). Ca^{2+}-АТФаза теряет фосфорный остаток и сродство к ионам Mg^{2+}. Изменяется конформация фермента и Ca^{2+}-АТФаза возвращается в исходное состояние.

Рис. 4.8. Механизм функционирования Ca^{2+}-АТФазы



Активный симпорт — перенос одновременно двух веществ в одном направлении, одно из них перемещается против градиента концентрации за счет перемещения другого вещества по градиенту концентрации, например Na^+(⊕) — зависимый транспорт глюкозы (●) в клетки кишечника

Активный антипорт — перенос в противоположных направлениях, одно из них перемещается против градиента концентрации за счет перемещения другого вещества по градиенту концентрации, например Na^+(⊕) — зависимый переносчик Ca^{2+} (●) в клетках слюнных желез

Рис. 4.9. Вторично-активный транспорт

3. Перенос макромолекул и частиц с участием мембран — эндоцитоз и экзоцитоз. Перенос из внеклеточной среды в клетку макромолекул, например белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов или еще более крупных частиц, происходит путем **эндоцитоза**. Связывание веществ или высокомолекулярных комплексов происходит в определенных участках плазматической мембраны, которые называются **окаймленными ямками**. Эндоцитоз, происходящий с участием рецепторов, встроенных в окаймленные ямки, позволяет клеткам поглощать специфические вещества и называется **рецептор-зависимым эндоцитозом**.

Макромолекулы, например пептидные гормоны, пищеварительные ферменты, белки внеклеточного матрикса, липопротеиновые комплексы, секретируются в кровь или межклеточное пространство путем **экзоцитоза**. Этот способ транспорта позволяет выводить из клетки вещества, которые накапливаются в секреторных гранулах. В большинстве случаев экзоцитоз регулируется путем изменения концентрации ионов кальция в цитоплазме клеток.

ТЕМА 4.3. ТРАНСМЕМБРАННАЯ ПЕРЕДАЧА СИГНАЛОВ

Важное свойство мембран — способность воспринимать и передавать внутрь клетки сигналы из окружающей среды. Восприятие клетками внешних сигналов происходит при их взаимодействии с рецепторами, расположенными в мембране клеток-мишеней. Рецепторы, присоединяя сигнальную молекулу, активируют внутриклеточные пути передачи информации, это приводит к изменению скорости различных метаболических процессов.

1. Сигнальная молекула, специфически взаимодействующая с мембранным рецептором, называется **первичным мессенджером**. В качестве первичных мессенджеров выступают различные химические соединения — гормоны, нейромедиаторы, эйкозаноиды, ростовые факторы или физические факторы, например квант света. Рецепторы клеточной мембраны, активированные первичными мессенджерами, передают полученную информацию системе белков и ферментов, которые образуют **каскад передачи сигнала**, обеспечивающий усиление сигнала в несколько сот раз. Время ответа клетки, заключающееся в активации или инактивации метаболических процессов, мышечного сокращения, транспорта веществ из клеток-мишеней, может составлять несколько минут.

Мембранные **рецепторы** подразделяются на:

- рецепторы, содержащие субъединицу, связывающую первичный мессенджер, и ионный канал;
- рецепторы, способные проявлять каталитическую активность;
- рецепторы, с помощью G-белков активирующие образование вторичных (внутриклеточных) мессенджеров, передающих сигнал специфическим белкам и ферментам цитозоля (рис. 4.10).

Вторичные мессенджеры имеют небольшую молекулярную массу, с высокой скоростью диффундируют в цитозоле клетки, изменяют активность соответствующих белков, а затем быстро расщепляются или удаляются из цитозоля.

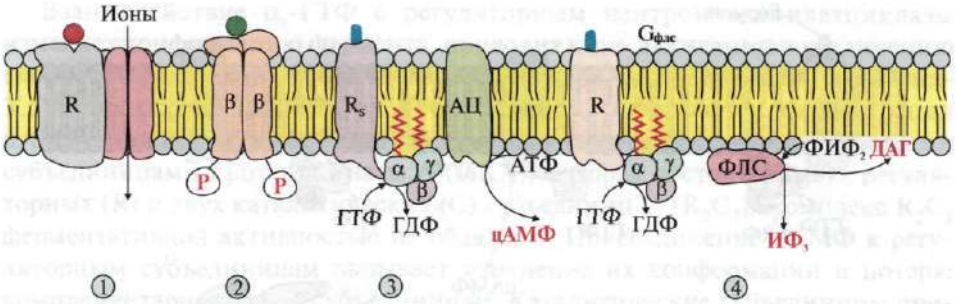


Рис. 4.10. Рецепторы, локализованные в мембране.

Мембранные рецепторы можно разделить на три группы. Рецепторы: 1 — содержащие субъединицу, связывающую сигнальную молекулу и ионный канал, например рецептор ацетилхолина на постсинаптической мембране; 2 — проявляющие каталитическую активность после присоединения сигнальной молекулы, например рецептор инсулина; 3, 4 — передающие сигнал на фермент аденилатциклазу (АЦ) или фосфолипазу С (ФЛС) при участии мембранных G-белков, например разные типы рецепторов адреналина, ацетилхолина и других сигнальных молекул

Роль **вторичных мессенджеров** выполняют молекулы и ионы:

- цАМФ (циклический аденозин-3',5'-монофосфат);
- цГМФ (циклический гуанозин-3',5'-монофосфат);
- $ИФ_3$ (инозитол-1,4,5-трифосфат);
- ДАГ (диацилглицерол);
- Ca^{2+}.

Существуют гормоны (стероидные и тиреоидные), которые, проходя липидный бислой, **проникают в клетку** и взаимодействуют с **внутриклеточными рецепторами**. Физиологически важным различием между мембранными и внутриклеточными рецепторами является скорость ответа на поступающий сигнал. В первом случае эффект будет быстрым и непродолжительным, во втором — медленным, но длительным.

Рецепторы, сопряженные с G-белками

Взаимодействие гормонов с рецепторами, сопряженными с G-белками, приводит к активации инозитолфосфатной системы трансдукции сигнала или изменению активности аденилатциклазной регуляторной системы.

2. Аденилатциклазная система включает (рис. 4.11):

— **интегральные** белки цитоплазматической мембраны:

- R_s — рецептор первичного мессенджера — активатора аденилатциклазной системы (АЦС);
- R_i — рецептор первичного мессенджера — ингибитора АЦС;
- фермент аденилатциклазу (АЦ).

— **«заякоренные»** белки:

- G_s — ГТФ-связывающий белок, состоящий из $\alpha_s\beta\gamma$-субъединиц, в котором α_s-субъединица связана с молекулой ГДФ;

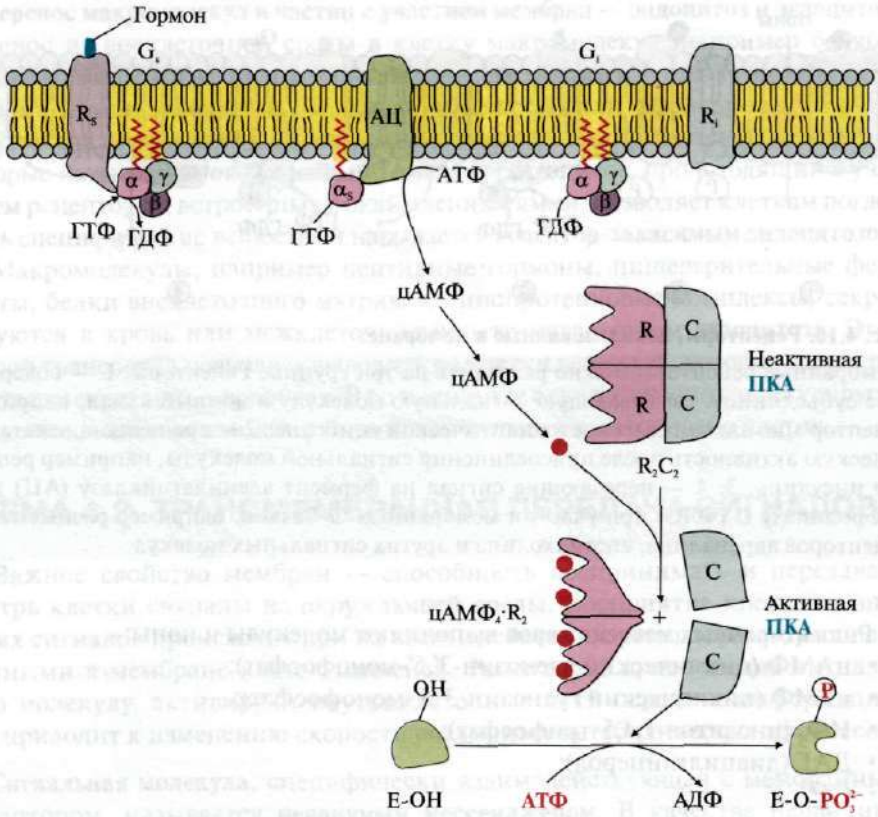


Рис. 4.11. Функционирование аденилатциклазной системы

- G_i — ГТФ-связывающий белок, состоящий из $\alpha_i\beta\gamma$-субъединиц, в котором α_i-субъединица связана с молекулой ГДФ;
  — **цитозольный** фермент протеинкиназу А (ПКА).

Последовательность событий передачи сигнала первичных мессенджеров с помощью аденилатциклазной системы

Рецептор имеет центры связывания первичного мессенджера на наружной поверхности мембраны и G-белка ($\alpha_s\beta\gamma$-ГДФ) на внутренней поверхности мембраны. Взаимодействие активатора аденилатциклазной системы, например гормона с рецептором (R_s), приводит к изменению конформации рецептора. Увеличивается сродство рецептора к G_s-белку. Присоединение комплекса гормон—рецептор к G_s-ГДФ снижает сродство α_s-субъединицы G_s-белка к ГДФ и увеличивает сродство к ГТФ. В активном центре α_s-субъединицы ГДФ замещается на ГТФ. Это вызывает изменение конформации субъединицы α_s и снижение ее сродства к субъединицам $\beta\gamma$. Отделившаяся субъединица α_s-ГТФ латерально перемещается в липидном слое мембраны к ферменту **аденилатциклазе**.

Взаимодействие α_s-ГТФ с регуляторным центром аденилатциклазы изменяет конформацию фермента, приводит к его активации и увеличению скорости образования вторичного мессенджера — циклического аденозин-3',5'-монофосфата (цАМФ) из АТФ. В клетке повышается концентрация цАМФ. Молекулы цАМФ могут обратимо соединяться с регуляторными субъединицами протеинкиназы А (ПКА), которая состоит из двух регуляторных (R) и двух каталитических (С) субъединиц — (R_2C_2). Комплекс R_2C_2 ферментативной активностью не обладает. Присоединение цАМФ к регуляторным субъединицам вызывает изменение их конформации и потерю комплементарности к С-субъединицам. Каталитические субъединицы приобретают ферментативную активность.

Активная протеинкиназа А с помощью АТФ фосфорилирует специфические белки по остаткам серина и треонина. Фосфорилирование белков и ферментов повышает или понижает их активность, поэтому изменяется скорость метаболических процессов, в которых они участвуют.

Активация сигнальной молекулой рецептора R_i стимулирует функционирование G_i-белка, которое протекает по тем же правилам, что и для G_s-белка. Но при взаимодействии субъединицы α_i-ГТФ с аденилатциклазой активность фермента снижается.

Инактивация аденилатциклазы и протеинкиназы А

α_s-Субъединица в комплексе с ГТФ при взаимодействии с аденилатциклазой начинает проявлять ферментативную (ГТФ-фосфатазную) активность, она гидролизует ГТФ. Образующаяся молекула ГДФ остается в активном центре α_s-субъединицы, изменяет ее конформацию и уменьшает сродство к АЦ. Комплекс АЦ и α_s-ГДФ диссоциирует, α_s-ГДФ включается в G_s-белок. Отделение α_s-ГДФ от аденилатциклазы инактивирует фермент и синтез цАМФ прекращается.

Фосфодиэстераза — «заякоренный» фермент цитоплазматической мембраны гидролизует образовавшиеся ранее молекулы цАМФ до АМФ. Снижение концентрации цАМФ в клетке вызывает расщепление комплекса $цАМФ_4R_2$ и повышает сродство R- и С-субъединиц, образуется неактивная форма ПКА.

Фосфорилированные ферменты и белки под действием **фосфопротеинфосфатазы** переходят в дефосфорилированную форму, изменяется их конформация, активность и скорость процессов, в которых участвуют эти ферменты. В результате система приходит в исходное состояние и готова вновь активироваться при взаимодействии гормона с рецептором. Таким образом, обеспечивается соответствие содержания гормона в крови и интенсивности ответа клеток-мишеней.

3. Участие аденилатциклазной системы в регуляции экспрессии генов. *Многие* белковые гормоны: глюкагон, вазопрессин, паратгормон и др., передающие свой сигнал посредством аденилатциклазной системы, могут не только вызвать изменение скорости реакций путем фосфорилирования уже имеющихся в клетке ферментов, но и увеличивать или уменьшать их количество, регулируя экспрессию генов (рис. 4.12). Активная протеинкиназа А может проходить в ядро и фосфорилировать фактор транскрипции (CREB). Присоединение фосфорного

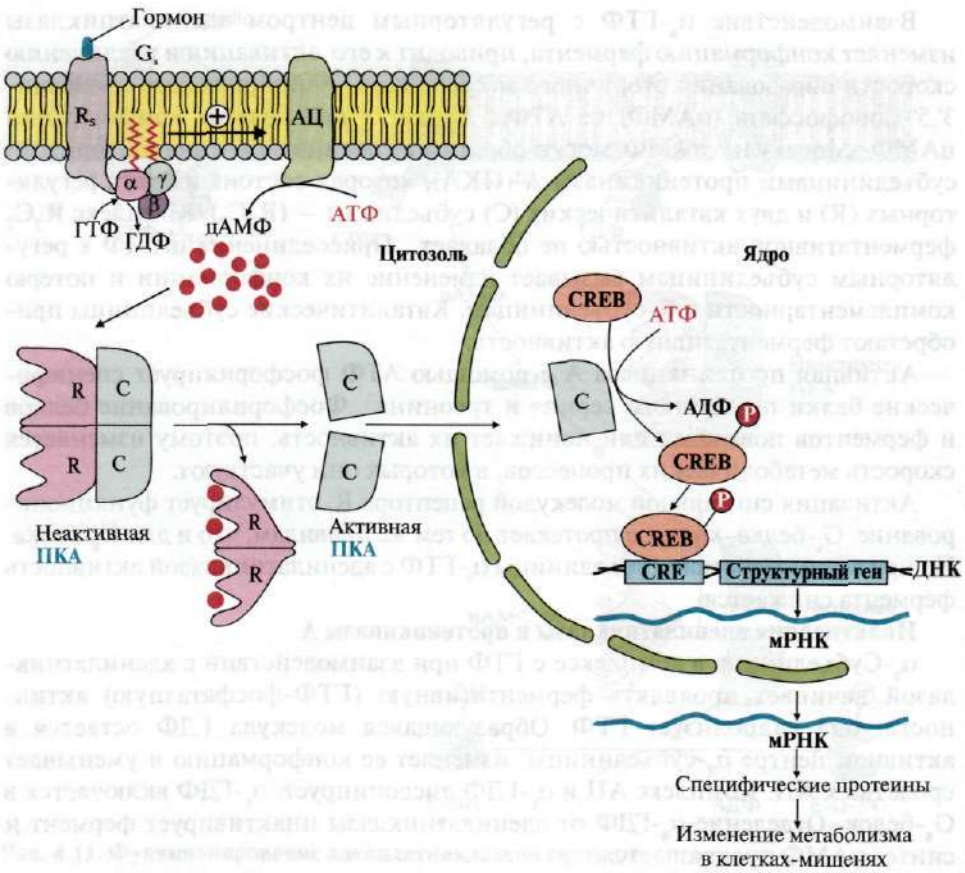


Рис. 4.12. Аденилатциклазный путь, приводящий к экспрессии специфических генов

остатка повышает сродство фактора транскрипции (CREB—Ⓟ) к специфической последовательности регуляторной зоны ДНК—CRE (цАМФ-response element) и стимулирует экспрессию генов определенных белков.

Синтезированные белки могут быть ферментами, увеличение количества которых повышает скорость реакций метаболических процессов, или мембранными переносчиками, обеспечивающими поступление или выход из клетки определенных ионов, воды или других веществ.

4. Инозитолфосфатная система. Инозитолфосфатная система включает (рис. 4.13):

- **интегральный** белок — рецептор (R) первичного мессенджера инозитолфосфатной системы;
- **поверхностный** белок — фермент фосфолипазу С (ФЛС);
- **«заякоренный»** белок — $G_{флс}$ — ГТФ-связывающий белок, состоящий из $\alpha_{флс}\beta\gamma$-субъединиц, в котором $\alpha_{флс}$-субъединица связана с молекулой ГДФ;

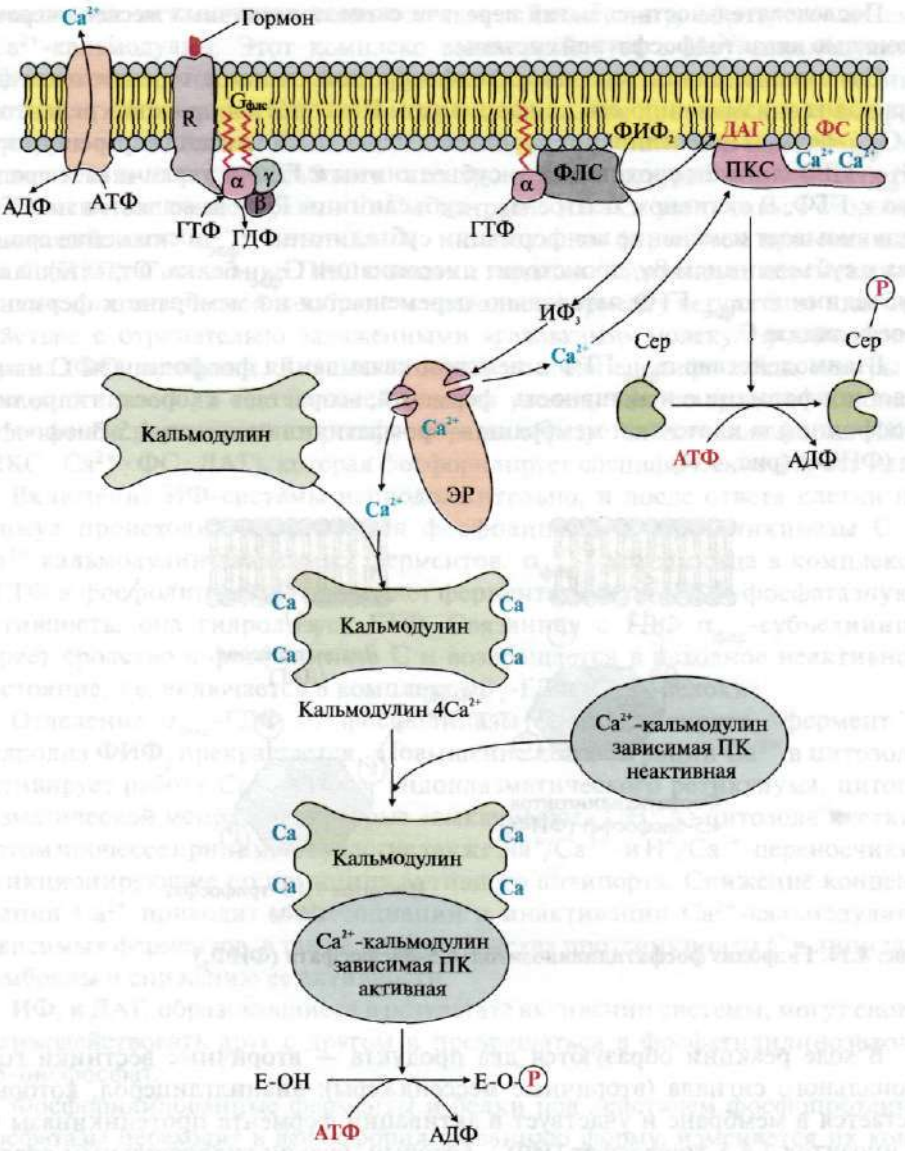


Рис. 4.13. Инозитолфосфатная система

Работу системы обеспечивают белки: кальмодулин, фермент протеинкиназа С, Ca^{2+}-кальмодулин-зависимые протеинкиназы, регулируемые Ca^{2+}-каналы мембраны эндоплазматического ретикулума, Ca^{2+}-АТФазы клеточной и митохондриальной мембран.

Последовательность событий передачи сигнала первичных мессенджеров с помощью инозитолфосфатной системы

Связывание активатора инозитолфосфатной системы с рецептором (R) приводит к изменению его конформации. Повышается сродство рецептора к $G_{флс}$-белку. Присоединение комплекса первичный мессенджер-рецептор к $G_{флс}$-ГДФ снижает сродство $\alpha_{флс}$-субъединицы к ГДФ и увеличивает сродство к ГТФ. В активном центре $\alpha_{флс}$-субъединицы ГДФ замещается на ГТФ. Это вызывает изменение конформации субъединицы $\alpha_{флс}$ и снижение сродства к субъединицам $\beta\gamma$, происходит диссоциация $G_{флс}$-белка. Отделившаяся субъединица $\alpha_{флс}$-ГТФ латерально перемещается по мембране к ферменту **фосфолипазе С**.

Взаимодействие $\alpha_{флс}$-ГТФ с центром связывания фосфолипазы С изменяет конформацию и активность фермента, возрастает скорость гидролиза фосфолипида клеточной мембраны — фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата ($ФИФ_2$) (рис. 4.14).

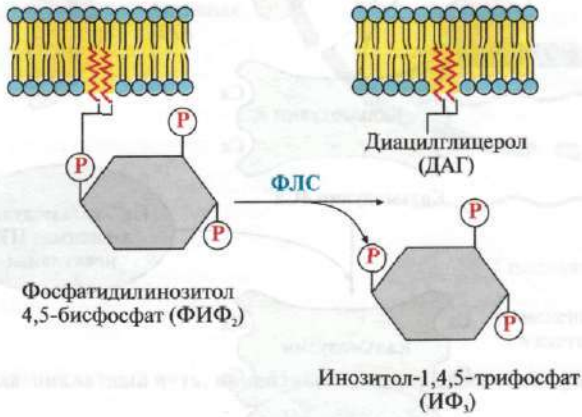


Рис. 4.14. Гидролиз фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата ($ФИФ_2$)

В ходе реакции образуются два продукта — вторичные вестники гормонального сигнала (вторичные мессенджеры): диацилглицерол, который остается в мембране и участвует в активации фермента протеинкиназы С, и инозитол-1,4,5-трифосфат ($ИФ_3$), который, будучи гидрофильным соединением, уходит в цитозоль. Таким образом, сигнал, принятый рецептором клетки, раздваивается. $ИФ_3$ связывается специфическими центрами Ca^{2+}-канала мембраны эндоплазматического ретикулума (ЭР), что приводит к изменению конформации белка и открытию Ca^{2+}-канала. Так как концентрация кальция в ЭР примерно на 3—4 порядка выше, чем в цитозоле, после открытия канала Ca^{2+} по градиенту концентрации поступает в цитозоль. В отсутствие $ИФ_3$ в цитозоле канал закрыт.

В цитозоле всех клеток содержится небольшой белок кальмодулин, имеющий четыре центра связывания Ca^{2+}. При повышении концентрации

кальция он активно присоединяется к кальмодулину, образуя комплекс $4Ca^{2+}$-кальмодулин. Этот комплекс взаимодействует с Ca^{2+}-кальмодулин-зависимыми протеинкиназами, другими ферментами и повышает их активность. Активированная Ca^{2+}-кальмодулин-зависимая протеинкиназа фосфорилирует определенные белки и ферменты, в результате чего изменяется их активность и скорость метаболических процессов, в которых они участвуют.

Повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле клетки увеличивает скорость взаимодействия Ca^{2+} с неактивным цитозольным ферментом **протеинкиназой С (ПКС)**. Связывание ПКС с ионами кальция стимулирует перемещение белка к плазматической мембране и позволяет ферменту вступать во взаимодействие с отрицательно заряженными «головками» молекул фосфатидилсерина (ФС) мембраны. Диацилглицерол, занимая специфические центры в протеинкиназе С, в еще большей степени увеличивает ее сродство к ионам кальция. На внутренней стороне мембраны образуется активная форма ПКС (ПКС · Ca^{2+} · ФС · ДАГ), которая фосфорилирует специфические ферменты.

Включение ИФ-системы непродолжительно, и после ответа клетки на стимул происходит инактивация фосфолипазы С, протеинкиназы С и Ca^{2+}-кальмодулин-зависимых ферментов. $\alpha_{флс}$-Субъединица в комплексе с ГТФ и фосфолипазой С проявляет ферментативную (ГТФ-фосфатазную) активность, она гидролизует ГТФ. Связанная с ГДФ $\alpha_{флс}$-субъединица теряет сродство к фосфолипазе С и возвращается в исходное неактивное состояние, т.е. включается в комплекс $\alpha\beta\gamma$-ГДФ ($G_{флс}$-белок).

Отделение $\alpha_{флс}$-ГДФ от фосфолипазы С инактивирует фермент и гидролиз $ФИФ_2$ прекращается. Повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле активирует работу Ca^{2+}-АТФаз эндоплазматического ретикулума, цитоплазматической мембраны, которые «выкачивают» Ca^{2+} из цитозоля клетки. В этом процессе принимают участие также Na^+/Ca^{2+}- и H^+/Ca^{2+}-переносчики, функционирующие по принципу активного антипорта. Снижение концентрации Ca^{2+} приводит к диссоциации и инактивации Ca^{2+}-кальмодулин-зависимых ферментов, а также потере сродства протеинкиназы С к липидам мембраны и снижению ее активности.

$ИФ_3$ и ДАГ, образовавшиеся в результате активации системы, могут снова взаимодействовать друг с другом и превращаться в фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат.

Фосфорилированные ферменты и белки под действием фосфопротеинфосфатазы переходят в дефосфорилированную форму, изменяется их конформация и активность.

5. Каталитические рецепторы. Каталитические рецепторы являются ферментами. Активаторами этих ферментов могут быть гормоны, ростовые факторы, цитокины. В активной форме — рецепторы-ферменты фосфорилируют специфические белки по —ОН-группам тирозина, поэтому их называют тирозиновыми протеинкиназами (рис. 4.15). При участии специальных механизмов сигнал, полученный каталитическим рецептором, может быть передан в ядро, где он стимулирует или подавляет экспрессию определенных генов.

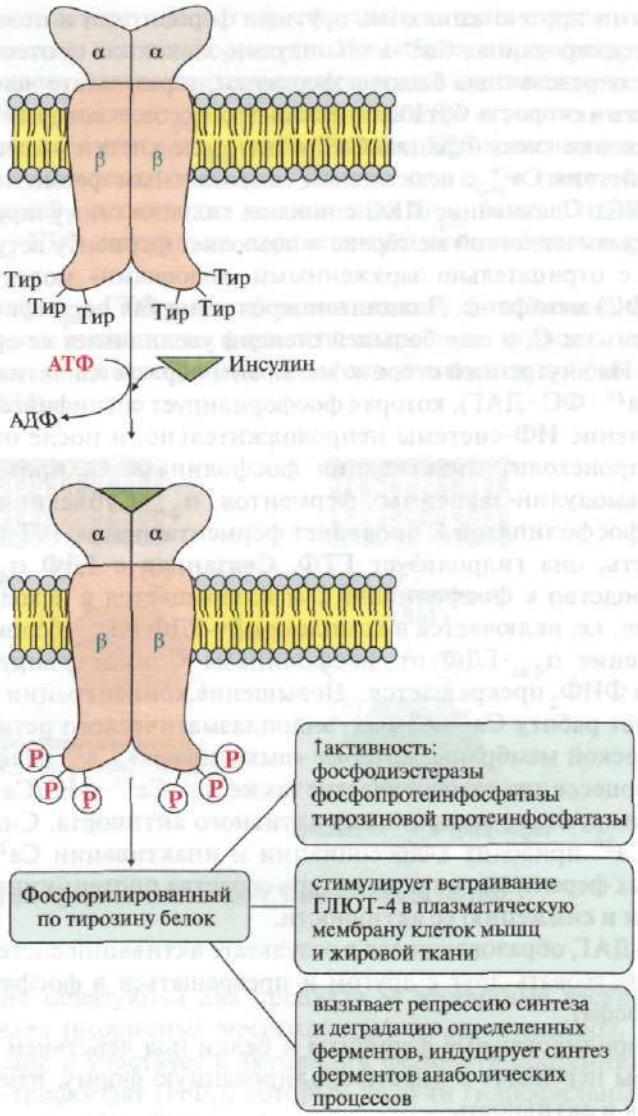


Рис. 4.15. Активация рецептора инсулина.

Фосфопротеинфосфатаза дефосфорилирует специфические фосфопротеины.
Фосфодиэстераза превращает цАМФ в АМФ и цГМФ в ГМФ.
ГЛЮТ 4 – переносчики глюкозы в инсулинзависимых тканях.
Тирозиновая протеинфосфатаза дефосфорилирует β-субъединицы рецептора инсулина

Примером каталитического рецептора может служить **рецептор инсулина**, в состав которого входят две α- и две β-субъединицы. α-Субъединицы расположены на наружной поверхности клеточной мембраны, β-субъединицы пронизывают мембранный бислой. Центр связывания инсулина образован N-концевыми доменами α-субъединиц. Каталитический центр рецептора находится на внутриклеточных доменах β-субъединиц. Цитозольная часть рецептора имеет несколько остатков тирозина, которые могут фосфорилироваться и дефосфорилироваться.

Присоединение инсулина в центр связывания, образованный α-субъединицами, вызывает кооперативные конформационные изменения рецептора. β-Субъединицы проявляют тирозинкиназную активность и катализируют трансаутофосфорилирование (первая β-субъединица фосфорилирует вторую β-субъединицу, и наоборот) по нескольким остаткам тирозина. Фосфорилирование приводит к изменению заряда, конформации и субстратной специфичности фермента (Тир-ПК). Тирозиновая-ПК фосфорилирует определенные клеточные белки, которые получили название субстратов рецептора инсулина. В свою очередь эти белки участвуют в активации каскада реакций фосфорилирования:

- **фосфопротеинфосфатазы** (ФПФ), которая дефосфорилирует специфические фосфопротеины;
- **фосфодиэстеразы**, которая превращает цАМФ в АМФ и цГМФ в ГМФ;
- **ГЛЮТ 4** — переносчиков глюкозы в инсулинзависимых тканях, поэтому повышается поступление глюкозы в клетки мышц и жировой ткани;
- **тирозиновой протеинфосфатазы**, которая дефосфорилирует β-субъединицы рецептора инсулина;
- **регуляторных белков ядра**, **факторов транскрипции**, повышающих или снижающих экспрессию генов определенных ферментов.

Реализация эффекта **ростовых факторов** может осуществляться с помощью каталитических рецепторов, которые состоят из одной полипептидной цепи, но при связывании первичного мессенджера образуют димеры. Все рецепторы этого типа имеют внеклеточный гликозилированный домен, трансмембранный (α-спираль) и цитоплазматический домен, способный при активации проявлять протеинкиназную активность.

Димеризация способствует активации их каталитических внутриклеточных доменов, которые осуществляют трансаутофосфорилирование по аминокислотным остаткам серина, треонина или тирозина. Присоединение фосфорных остатков приводит к формированию у рецептора центров связывания для специфических цитозольных белков и активации протеинкиназного каскада передачи сигнала (рис. 4.16).

Последовательность событий передачи сигнала первичных мессенджеров (ростовых факторов) при участии Ras- и Raf-белков.

Связывание рецептора (R) с фактором роста (ФР) приводит к его димеризации и трансаутофосфорилированию. Фосфорилированный рецептор приобретает сродство к Grb2-белку. Образованный комплекс ФР·R·Grb2 взаимодействует с цитозольным белком SOS. Изменение конформации SOS

обеспечивает его взаимодействие с заякоренным белком мембраны Ras-ГДФ. Образование комплекса ФР·R·Grb2·SOS·Ras-ГДФ снижает сродство Ras-белка к ГДФ и увеличивает сродство к ГТФ.

Замена ГДФ на ГТФ изменяет конформацию Ras-белка, который отделяется от комплекса и взаимодействует с Raf-белком в примембранной области. Комплекс Ras-ГТФ·Raf проявляет протеинкиназную активность и фосфорилирует фермент МЕК-киназу. Активированная МЕК-киназа в свою очередь фосфорилирует МАП-киназу по треонину и тирозину.

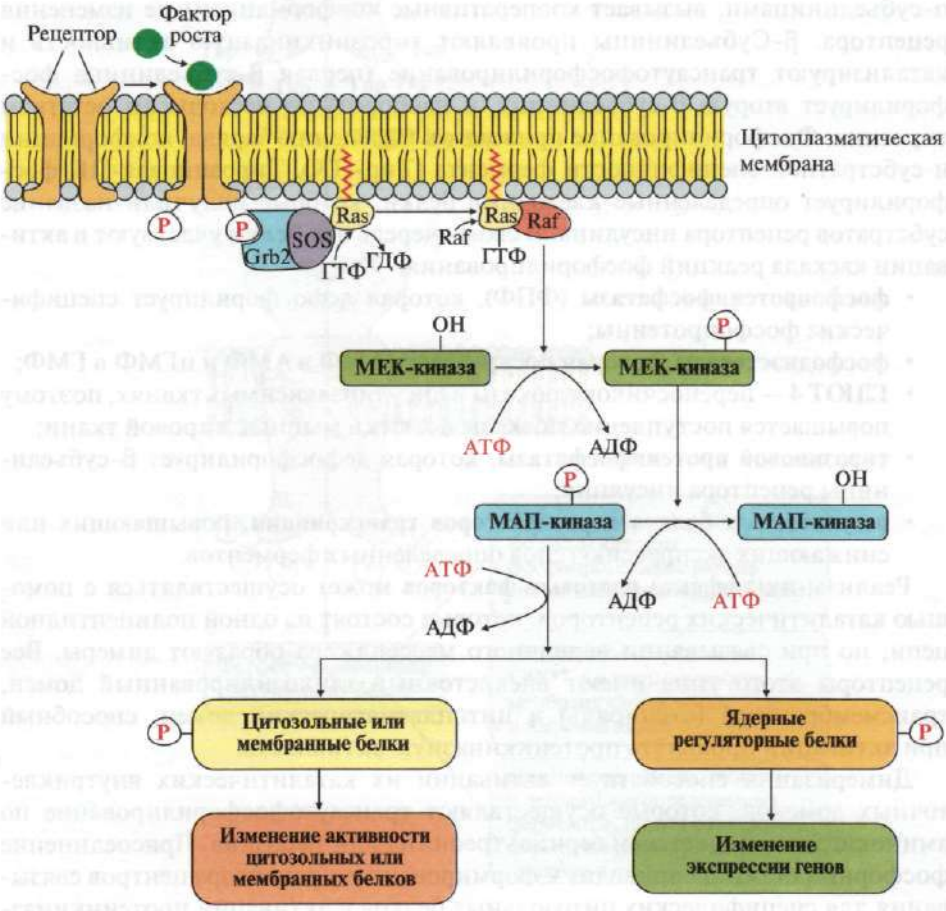


Рис.4.16. МАП-киназный каскад.

Рецепторы такого типа имеют эпидермальный фактор роста (ЭФР), фактор роста нервов (ФРН) и другие ростовые факторы.

Grb2 – протеин, взаимодействующий с рецептором ростового фактора (growth receptor binding protein); SOS (GEF) – ГДФ-ГТФ обменный фактор (guanine nucleotide exchange factor); Ras – G-белок (гуанидинтрифосфатаза); Raf-киназа – в активной форме – фосфорилирующая МЕК-киназу; МЕК-киназа – киназа МАП-киназы; МАП-киназа – митогенактивированная протеинкиназа (mitogen-aktivated protein kinase)

Присоединение группы $-PO_3^{2-}$ к аминокислотным радикалам МАП-киназы изменяет ее заряд, конформацию и активность. Фермент фосфорилирует по серину и треонину специфические белки мембран, цитозоля и ядра.

Изменение активности этих белков оказывает влияние на скорость метаболических процессов, функционирование мембранных транслоказ, митотическую активность клеток-мишеней.

Рецепторы с **гуанилатциклазной активностью** также относятся к каталитическим рецепторам. **Гуанилатциклаза** катализирует образование из ГТФ цГМФ, который является одним из важных мессенджеров (посредников) внутриклеточной передачи сигнала (рис. 4.17).

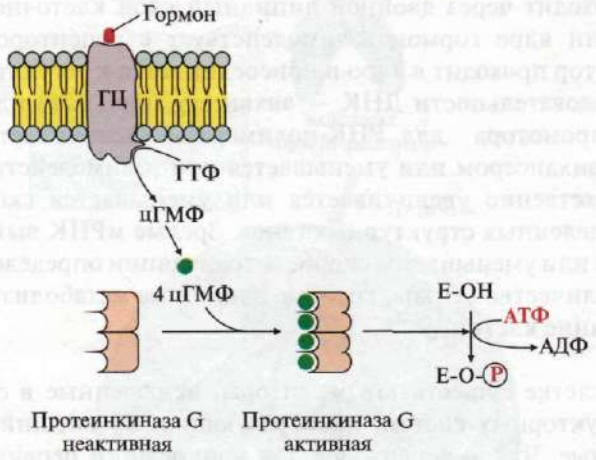


Рис. 4.17. Регуляция активности мембранной гуанилатциклазы.

Мембранно-связанная гуанилатциклаза (ГЦ) — трансмембранный гликопротеин. Центр связывания сигнальной молекулы находится на внеклеточном домене, внутриклеточный домен гуанилатциклазы в результате активации проявляет каталитическую активность

Присоединение первичного мессенджера к рецептору активирует гуанилатциклазу, которая катализирует превращение ГТФ в циклический гуанозин-3',5'-монофосфат (цГМФ) — вторичный мессенджер. В клетке повышается концентрация цГМФ. Молекулы цГМФ могут обратимо присоединяться к регуляторным центрам протеинкиназы G (ПКG), которая состоит из двух субъединиц. Четыре молекулы цГМФ изменяют конформацию и активность фермента. Активная протеинкиназа G катализирует фосфорилирование определенных белков и ферментов цитозоля клетки. *Одним из первичных мессенджеров протеинкиназы G является предсердный натриуретический фактор (ПНФ), регулирующий гомеостаз жидкости в организме.*

6. Передача сигнала с помощью внутриклеточных рецепторов. Гидрофобные по химической природе гормоны (стероидные гормоны и тироксин) могут диффундировать через мембраны, поэтому их рецепторы находятся в цитозоле или ядре клетки.

Цитозольные рецепторы связаны с белком-шапероном, который предотвращает преждевременную активацию рецептора. Ядерные и цитозольные рецепторы стероидных и тиреоидных гормонов содержат ДНК-связывающий домен, обеспечивающий в ядре взаимодействие комплекса гормон-рецептор с регуляторными участками ДНК и изменение скорости транскрипции.

Последовательность событий, приводящих к изменению скорости транскрипции

Гормон проходит через двойной липидный слой клеточной мембраны. В цитозоле или ядре гормон взаимодействует с рецептором. Комплекс гормон—рецептор проходит в ядро и присоединяется к регуляторной нуклеотидной последовательности ДНК — **энхансеру** (рис. 4.18) или **сайленсеру**. Доступность промотора для РНК-полимеразы увеличивается при взаимодействии с энхансером или уменьшается при взаимодействии с сайленсером. Соответственно увеличивается или уменьшается скорость транскрипции определенных структурных генов. Зрелые мРНК выходят из ядра. Увеличивается или уменьшается скорость трансляции определенных белков. Изменяется количество белков, которые влияют на метаболизм и функциональное состояние клетки.

В каждой клетке существуют рецепторы, включенные в состав разных сигнал-трансдукторных систем, преобразующих все внешние сигналы во внутриклеточные. Число рецепторов для конкретного первичного мессенджера может варьировать в пределах от 500 до более 100 000 на клетку. Они располагаются на мембране отдаленно друг от друга либо сосредоточены в определенных ее участках.

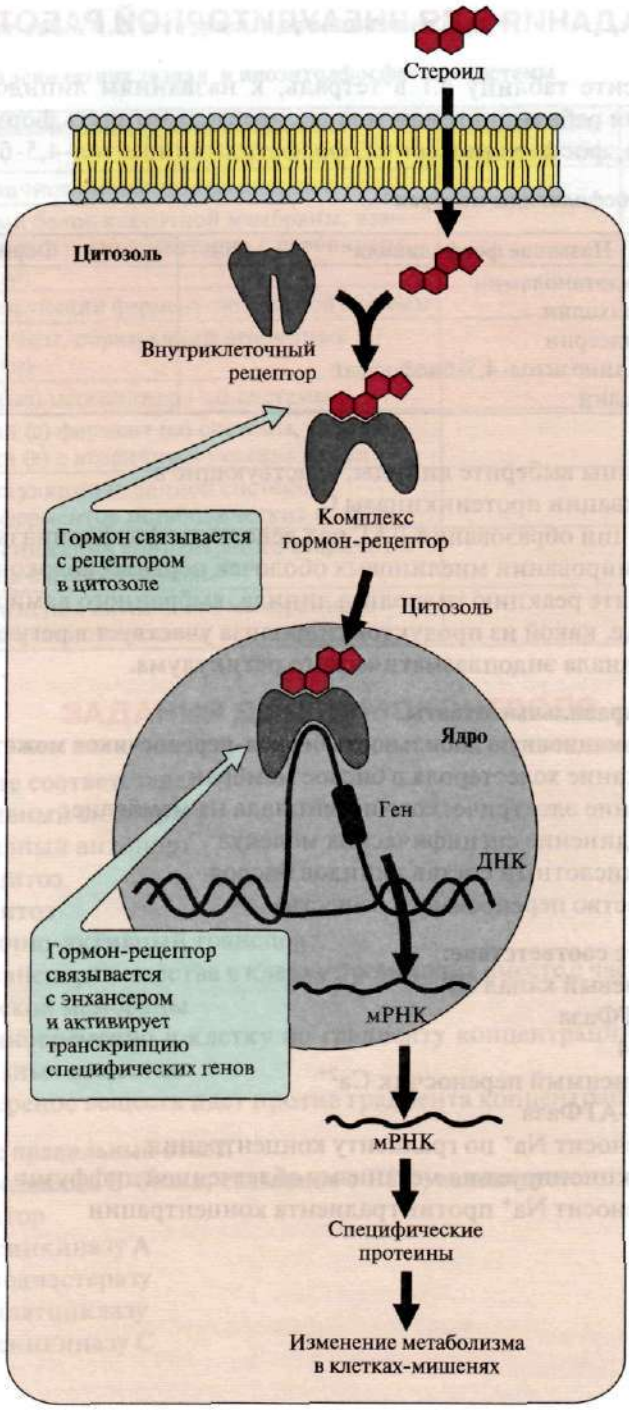


Рис. 4.18. Передача сигнала на внутриклеточные рецепторы

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. а) перенесите таблицу 4.1 в тетрадь, к названиям липидов допишите формулы. Для работы по темам модуля необходимо знать формулы фосфатидилхолина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата.

Таблица 4.1. Фосфолипиды мембран

Название фосфолипида	Формула
А. Фосфатидилэтаноламин	
Б. Фосфатидилхолин	
В. Фосфатидилсерин	
Г. Фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат	
Д. Сфингомиелин	

б) из таблицы выберите липиды, участвующие в:

1. Активации протеинкиназы С
2. Реакции образования ДАГ под действием фосфолипазы С
3. Формировании миелиновых оболочек нервных волокон

в) напишите реакцию гидролиза липида, выбранного вами в п. 2;

г) укажите, какой из продуктов гидролиза участвует в регуляции Ca^{2+}-канала эндоплазматического ретикулума.

2. Выберите правильные ответы.

На конформационную лабильность белков-переносчиков может влиять:

А. Содержание холестерола в бислое мембран

Б. Изменение электрического потенциала на мембране

В. Присоединение специфических молекул

Г. Жирнокислотный состав липидов бислоя

Д. Количество переносимого вещества

3. Установите соответствие:

А. Кальциевый канал ЭР

Б. Ca^{2+}-АТФаза

В. ГЛЮТ-4

Г. Na^{+}-зависимый переносчик Ca^{2+}

Д. Na^{+}, K^{+}-АТФаза

1. Переносит Na^{+} по градиенту концентрации
2. Функционирует по механизму облегченной диффузии
3. Переносит Na^{+} против градиента концентрации

4. Перенесите табл. 4.2. в тетрадь и заполните ее.

Таблица 4.2. Аденилатциклазная и инозитолфосфатная системы

Строение и этапы функционирования	Аденилатциклазная система	Инозитолфосфатная система
Пример первичного мессенджера системы		
Интегральный белок клеточной мембраны, взаимодействующий комплементарно с первичным мессенджером		
Белок, активирующий фермент сигнальной системы		
Фермент системы, образующий вторичный (е) мессенджер (ы)		
Вторичный (ые) мессенджер (-ы) системы		
Цитозольный (е) фермент (ы) системы, взаимодействующий (е) с вторичным мессенджером		
Механизм регуляции (в данной системе) активности ферментов метаболических путей		
Механизмы снижения концентрации вторичных мессенджеров в клетке-мишени		
Причина снижения активности мембранного фермента сигнальной системы		

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Установите соответствие:

А. Пассивный симпорт
Б. Пассивный антипорт
В. Эндоцитоз
Г. Экзоцитоз
Д. Первично-активный транспорт

1. Транспорт вещества в клетку происходит вместе с частью плазматической мембраны
2. Одновременно в клетку по градиенту концентрации проходят два разных вещества
3. Перенос веществ идет против градиента концентрации

2. Выберите правильный ответ.

α_S-Субъединица G-белка, связанная с ГТФ, активирует:

А. Рецептор
Б. Протеинкиназу А
В. Фосфодиэстеразу
Г. Аденилатциклазу
Д. Протеинкиназу С

3. Установите соответствие.

Функция:

А. Регулирует активность каталитического рецептора

Б. Активирует фосфолипазу С

В. Переводит в активную форму протеинкиназу А

Г. Повышает концентрацию Ca^{2+} в цитозоле клетки

Д. Активирует протеинкиназу С

Вторичный мессенджер:

1. цАМФ
2. Ca^{2+}
3. $ИФ_3$

4. Установите соответствие.

Функционирование:

А. Способен к латеральной диффузии в бислое мембраны

Б. В комплексе с первичным мессенджером присоединяется к энхансеру

В. Проявляет ферментативную активность при взаимодействии с первичным мессенджером

Г. Может взаимодействовать с G-белком

Д. В процессе передачи сигнала взаимодействует с фосфолипазой С

Рецептор:

1. Инсулина
2. Адреналина
3. Стероидного гормона

5. Выполните «цепное» задание:

а) пептидные гормоны взаимодействуют с рецепторами:

А. В цитозоле клетки

Б. Интегральными белками мембран клеток-мишеней

В. В ядре клетки

Г. Ковалентно связанными с $ФИФ_2$

б) взаимодействие такого рецептора с гормоном вызывает повышение концентрации в клетке:

А. Гормона

Б. Промежуточных метаболитов

В. Вторичных мессенджеров

Г. Ядерных белков

в) этими молекулами могут быть:

А. ТАГ

Б. ГТФ

В. $ФИФ_2$

Г. цАМФ

г) они активируют:

А. Аденилатциклазу

Б. Ca^{2+}-зависимый кальмодулин

В. Протеинкиназу А

Г. Фосфолипазу С

д) этот фермент изменяет скорость метаболических процессов в клетке путем:

А. Повышения концентрации Ca^{2+} в цитозоле

Б. Фосфорилирования регуляторных ферментов

В. Активации протенфосфатазы

Г. Изменения экспрессии генов регуляторных белков

6. Выполните «цепное» задание:

а) присоединение фактора роста (ФР) к рецептору (R) приводит к:

А. Изменению локализации комплекса ФР·R

Б. Димеризации и трансаутофосфорилированию рецептора

В. Изменению конформации рецептора и присоединению к Gs-белку

Г. Перемещению комплекса ФР·R

б) такие изменения в структуре рецептора увеличивают его сродство к поверхностному белку мембраны:

А. G_s В. Ras

Б. Raf Г. Grb2

в) это взаимодействие повышает вероятность присоединения к комплексу цитозольного белка:

А. Кальмодулина В. Ras

Б. ПКС Г. SOS

г) который увеличивает комплементарность комплекса к «заякоренному» белку:

А. Ras В. G_s

Б. $G_{флс}$ Г. G_i

д) изменение конформации «заякоренного» белка снижает его сродство к:

А. цАМФ В. ГТФ

Б. ГДФ Г. АТФ

е) это вещество заменяется на:

А. ГДФ В. АМФ

Б. цГМФ Г. ГТФ

ж) присоединение нуклеотида способствует взаимодействию «заякоренного» белка с:

А. ПКА В. Кальмодулином

Б. SOS Г. Raf

з) этот белок входит в состав комплекса, который фосфорилирует:

А. МЕК-киназу В. Протеинкиназу С

Б. Протеинкиназу А Г. МАП-киназу

и) этот фермент в свою очередь активирует:

А. МЕК-киназу В. Протеинкиназу G

Б. Raf-белок Г. МАП-киназу

к) фосфорилирование белка повышает его сродство к:

А. Белкам SOS и Raf В. Регуляторным белкам ядра

Б. Кальмодулину Г. Ядерным рецепторам

л) активация этих белков приводит к:

А. Дефосфорилированию ГТФ в активном центре белка Ras

Б. Снижению сродства рецептора к фактору роста

В. Повышению скорости матричных биосинтезов

Г. Диссоциации комплекса SOS·Grb2

м) вследствие этого:

А. Белок SOS отделяется от рецептора

Б. Происходит диссоциация протомеров рецептора (R)

В. Ras-белок отделяется от Raf-белка

Г. Возрастает пролиферативная активность клетки-мишени.

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. 1—В, 2—А, 3—Д

2. Г

3. 1—В, 2—Д, 3—Г

4. 1—В, 2-Г, 3—Б

5. а) Б, б) В, в) Г, г) В, д) Б

6. *а) Б, б) Г, в) Г, г) А, д) Б, е) Г, ж) Г, з) А, и) Г, к) В, л) В, м) Г*

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Структура и функции мембран
2. Транспорт веществ через мембраны
3. Особенности строения белков мембран
4. Трансмембранные системы передачи сигналов (аденилатциклазная, инозитолфосфатная, гуанилатциклазная, каталитические и внутриклеточные рецепторы)
5. Первичные мессенджеры
6. Вторичные мессенджеры (посредники)

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Ознакомьтесь с рис. 4.19 и выполните следующие задания:

а) *назовите вид транспорта;*

б) установите порядок событий:

А. Cl^- по градиенту концентрации выходит из клетки

Б. Протеинкиназа А фосфорилирует R-субъединицу канала

В. Изменяется конформация R-субъединицы

Г. Происходят кооперативные конформационные изменения мембранного белка

Д. Активируется аденилатциклазная система

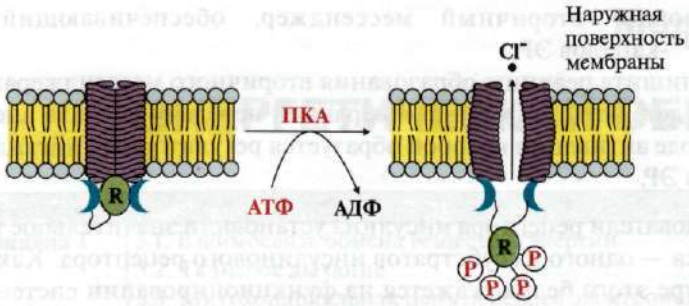


Рис. 4.19. Функционирование Cl^--канала эндотелия кишечника.

R — регуляторный белок, который переходит в фосфорилированную форму под действием протеинкиназы А (ПКА)

в) сравните функционирование Ca^{2+}-канала мембраны эндоплазматического ретикулума и Cl^--канала клетки эндотелия кишечника, заполнив табл. 4.3.

Таблица 4.3. Способы регуляции функционирования каналов

Этап функционирования	Ca^{2+}-канал ЭР	Cl^--канал энтероцитов
Система активации		
Причина изменения конформации канала		
Механизм транспорта ионов		

Решите задачи

1. Сокращение сердечной мышцы активирует Ca^{2+}, содержание которого в цитозоле клетки повышается за счет функционирования цАМФ-зависимых переносчиков цитоплазматической мембраны. В свою очередь, концентрация цАМФ в клетках регулируется двумя сигнальными молекулами — адреналином и ацетилхолином. Причем известно, что адреналин, взаимодействуя с β_2-адренорецепторами, повышает концентрацию цАМФ в клетках миокарда и стимулирует сердечный выброс, а ацетилхолин, взаимодействуя с M_2-холинорецепторами, снижает уровень цАМФ и сократимость миокарда. Объясните, почему два первичных мессенджера, используя одну и ту же систему трансдукции сигнала, вызывают различный клеточный ответ. Для этого:

а) представьте схему передачи сигнала для адреналина и ацетилхолина;

б) укажите различие в каскадах передачи сигналов этих мессенджеров.

2. Ацетилхолин, взаимодействуя с M_3-холинорецепторами слюнных желез, стимулирует выход Ca^{2+} из ЭР. Повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле обеспечивает экзоцитоз секреторных гранул и высвобождение в слюнной проток электролитов и небольшого количества белков. Объясните, как регулируется работа Ca^{2+}-каналов ЭР. Для этого:

а) назовите вторичный мессенджер, обеспечивающий открытие Ca^{2+}-каналов ЭР;
б) напишите реакцию образования вторичного мессенджера;
в) представьте схему трансмембранной передачи сигнала ацетилхолина, в ходе активации которой образуется регуляторный лиганд Ca^{2+}-каналов ЭР.

3. Исследователи рецептора инсулина установили значительное изменение в гене белка — одного из субстратов инсулинового рецептора. Как нарушение в структуре этого белка скажется на функционировании системы передачи сигнала инсулина? Для ответа на вопрос:

а) приведите схему трансмембранной передачи сигнала инсулина;
б) назовите белки и ферменты, которые активирует инсулин в клетках-мишенях, укажите их функцию.

4. Белок Ras является «заякоренным» белком цитоплазматической мембраны. Функцию «якоря» выполняет 15-углеродный остаток фарнезила $H_3C—(CH_3)C=CH—CH_2—[CH_2—(CH_3)C=CH—CH_2]_2—$, который присоединяется к белку ферментом фарнезилтрансферазой в ходе посттрансляционной модификации. В настоящее время ингибиторы этого фермента проходят клинические испытания.

Почему использование этих препаратов приводит к нарушению трансдукции сигнала ростовых факторов ? Для ответа:

а) представьте схему передачи сигнала с участием Ras-белков;
б) объясните функцию Ras-белков и последствия нарушения их ацилирования;
в) предположите, для лечения каких заболеваний были разработаны эти препараты.

5. Стероидный гормон кальцитриол активирует всасывание пищевого кальция, увеличивая количество белков-переносчиков Ca^{2+} в клетках кишечника. Объясните механизм действия кальцитриола. Для этого:

а) приведите общую схему передачи сигнала стероидных гормонов и опишите ее функционирование;
б) назовите процесс, который активирует гормон в ядре клетки-мишени;
в) укажите, в каком матричном биосинтезе будут участвовать молекулы, синтезированные в ядре, и где он протекает.

Модуль 5

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН

Структура модуля	Темы
Модульная единица 1	5.1. Взаимосвязь обмена веществ и энергии 5.2. Тканевое дыхание 5.3. Митохондриальная цепь переноса электронов 5.4. Сопряжение тканевого дыхания и синтеза АТФ 5.5. Дыхательный контроль 5.6. Разобщение дыхания и синтеза АТФ 5.7. Терморегуляторная функция дыхания 5.8. Ингибиторы дыхания
Модульная единица 2	5.9. Заключительный этап катаболизма пищевых веществ. Специфические и общий пути катаболизма (ОПК) 5.10. Анаболические функции общего пути катаболизма (ОПК) 5.11. Регуляция ОПК 5.12. Гипоэнергетические состояния

Модульная единица 1
ВЗАИМОСВЯЗЬ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ. ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ. МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ЦЕПЬ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

Цели изучения

Уметь:

1. Оценивать значение основных этапов обмена веществ в получении энергии, необходимой для процессов жизнедеятельности.
2. Анализировать этапы трансформации энергии пищевых веществ в энергию химических связей АТФ как основного аккумулятора энергии в организме.
3. Определять энергетический эффект окисления различных субстратов (в молях АТФ).
4. Оценивать эффективность тканевого дыхания как главного механизма синтеза АТФ.
5. Прогнозировать последствия действия на организм некоторых лекарственных веществ и ядов, нарушающих тканевое дыхание и синтез АТФ.

Знать:

1. Строение ферментов и коферментов дыхательной цепи.
2. Строение и роль витаминов, участвующих в тканевом дыхании.
3. Этапы переноса электронов и протонов от дегидрируемых субстратов к кислороду.
4. Основные положения, объясняющие механизм сопряжения дыхания и синтеза АТФ.
5. Примеры ингибиторов и разобщителей тканевого дыхания и механизмы их действия.
6. Роль тканевого дыхания в регуляции теплопродукции в организме.

ТЕМА 5.1. ВЗАИМОСВЯЗЬ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ

Обмен веществ включает:

- поступление веществ в организм;
- метаболизм или промежуточный обмен;
- выделение конечных продуктов обмена (рис. 5.1).

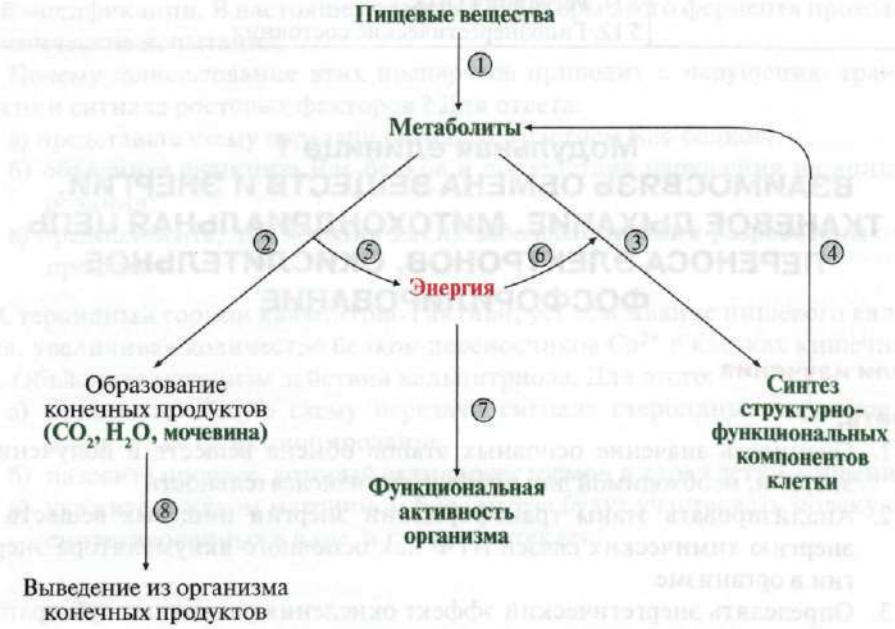


Рис. 5.1. Этапы обмена веществ. Взаимосвязь обмена веществ и энергии:
1 — пищеварение; 2, 4 — катаболизм; 3 — анаболизм; 5 — экзергонические реакции; 6, 7 — эндергонические реакции; 8 — выделение конечных продуктов

1. Поступление веществ в организм происходит в результате дыхания, питания и пищеварения. При пищеварении происходит гидролиз полимеров (белков, углеводов, липидов) до мономеров, которые легко всасываются в кровь.

Метаболизм представляет собой совокупность двух разнонаправленных процессов: **катаболизма и анаболизма.** В процессе катаболизма сложные органические молекулы превращаются в конечные продукты: CO_2, H_2O и мочевину. **Анаболизм** представляет собой совокупность реакций синтеза сложных полимеров.

Реакции катаболизма сопровождаются выделением энергии (**экзергонические** реакции), а ее использование происходит в реакциях анаболизма и при выполнении различных видов работы **(эндергонические реакции).**

2. АТФ-АДФ цикл. Центральную роль в энергетическом обмене играет АТФ. В высокоэргических связях АТФ аккумулируется энергия, выделяемая в процессах катаболизма. Энергия, выделяющаяся при окислении пищевых веществ, обеспечивает синтез АТФ из АДФ и H_3PO_4, а энергия гидролиза АТФ, в свою очередь, используется в различных видах работы (рис. 5.2).

Рис. 5.2. Цикл АТФ-АДФ

За сутки в организме образуется и распадается около 60 кг АТФ. *Однако в клетке АТФ не накапливается, а расходуется в течение* 1 минуты после образования, что требует ее непрерывного пополнения **(АТФ-АДФ цикл)**.

Синтез и использование АТФ происходят постоянно, и то количество АТФ, которое было израсходовано клеткой, восполняется в процессе ее синтеза.

ТЕМА 5.2. ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ

Наиболее важными экзергоническими реакциями метаболизма являются реакции окисления органических веществ, в которых используется кислород и образуется вода и CO_2. Совокупность этих реакций называтся **тканевым дыханием** (рис. 5.3).

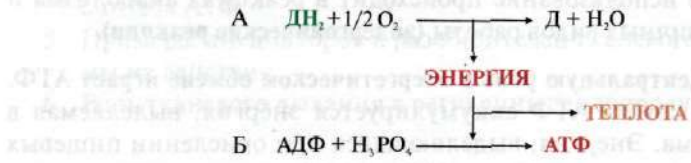


Рис. 5.3. Этапы тканевого дыхания:
А — окисление субстратов путем дегидрирования и многоэтапный процесс переноса электронов на кислород; Б — перенос электронов сопровождается уменьшением свободной энергии; часть этой энергии рассеивается в виде теплоты, а ≈40% используется на синтез АТФ

Синтез АТФ из АДФ и H_3PO_4 за счет энергии, выделяющейся при тканевом дыхании, называется окислительным фосфорилированием.

Первый этап тканевого дыхания — **дегидрирование** различных субстратов, образующихся в реакциях катаболизма.

Ферменты, отщепляющие водород от субстратов (**дегидрогеназы**), находятся в основном в **матриксе митохондрий**. В зависимости от строения коферментов дегидрогеназы делятся на две группы: **NAD-зависимые** и **FAD-зависимые дегидрогеназы**. В **NAD-зависимых дегидрогеназах NAD** непрочно связан с ферментом; в восстановленной форме (**NADH**) он отделяется от апофермента и служит донором водорода для другого фермента (рис. 5.4).

Рис. 5.4. Дегидрирование малата

В **FAD-зависимых дегидрогеназах FAD** ковалентно связан с апоферментом, поэтому в реакциях, катализируемых **FAD-зависимыми дегидрогеназами**, участвует второй субстрат (акцептор водорода). Для всех флавиновых ферментов этим субстратом служит убихинон (коэнзим**Q**).

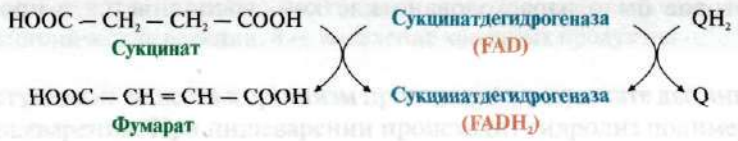


Рис. 5.5. Дегидрирование сукцината

ТЕМА 5.3. МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ЦЕПЬ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ

1. Перенос электронов на кислород происходит при участии системы переносчиков, локализованных во внутренней мембране митохондрий и образующих **цепь переноса электронов (ЦПЭ)** (рис. 5.6).

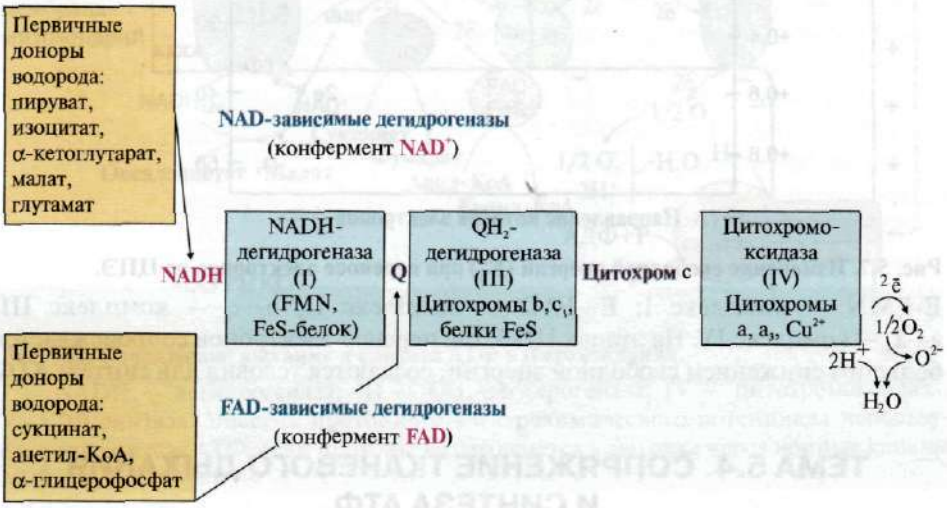


Рис. 5.6. Пути поступления электронов и протонов в ЦПЭ от первичных доноров.

Высокомолекулярные комплексы, расположенные во внутренней мембране митохондрий: NADH-дегидрогеназа (комплекс I), QH_2-дегидрогеназа (комплекс III), цитохромоксидаза (комплекс IV). NAD-зависимые дегидрогеназы локализованы в матриксе митохондрий. Большинство FAD-зависимых дегидрогеназ также находится в матриксе; сукцинатдегидрогеназа (комплекс II), в отличие от других FAD-зависимых дегидрогеназ, является компонентом внутренней мембраны митохондрий, но на рисунке не представлена

В состав ЦПЭ входят: NADH-дегидрогеназа (комплекс I), сукцинатдегидрогеназа (комплекс II), QH_2-дегидрогеназа (комплекс III), цитохромоксидаза (комплекс IV), а также низкомолекулярные переносчики (кофермент Q и цитохром c).

2. Все компоненты ЦПЭ расположены в митохондриальной мембране в порядке **возрастания редокс-потенциалов**; самый высокий редокс-потенциал у кислорода. Это обеспечивает последовательное перемещение электронов от дегидрируемых субстратов на кислород, сопровождающееся освобождением части свободной энергии электронов (рис. 5.7).

Около 40% этой энергии трансформируется в энергию химических связей в процессе **окислительного фосфорилирования**.

Рис. 5.7. Изменение свободной энергии (E'_0) при переносе электронов по ЦПЭ.

E-FMN — комплекс I; E—FAD — комплекс II; b—c_1 — комплекс III; a—a_3 — комплекс IV. На этапах ЦПЭ, где перенос электронов сопровождается большим снижением свободной энергии, создаются условия для синтеза АТФ

ТЕМА 5.4. СОПРЯЖЕНИЕ ТКАНЕВОГО ДЫХАНИЯ И СИНТЕЗА АТФ

1. Перенос электронов по ЦПЭ при участии комплексов I, III и IV сопровождается выделением наибольшего количества энергии (рис. 5.7). Часть этой энергии используется для переноса H^+ из матрикса в межмембранное пространство, в результате чего возрастает **протонный электрохимический потенциал $\Delta\mu H^+$, основной составляющей которого является протонный градиент** (рис. 5.8).

2. При достижении определенного **протонного градиента** происходит активация **АТФ-синтазы (комплекс V)**, в ней открывается канал, через который протоны возвращаются в матрикс из межмембранного пространства, а энергия $\Delta\mu H^+$ используется для синтеза АТФ.

3. Каждый из трех комплексов ЦПЭ (I, III, IV) обеспечивает необходимый протонный градиент для активации АТФ-синтазы и синтеза одной молекулы АТФ. Количество молекул АТФ, образованных при восстановлении одного атома кислорода до H_2O при прохождении двух электронов по ЦПЭ, эквивалентно количеству использованного фосфата H_3PO_4 (P) и **выражается коэффициентом окислительного фосфорилирования (P/O)**. Если водород поступает в ЦПЭ от кофермента NADH, то P/O имеет **максимальное** значение, равное 3. Если водород поступает от FAD-зависимых дегидрогеназ, то P/O равен 2 (реальные значения P/O несколько ниже, так как часть энергии электрохимического потенциала рассеивается в форме теплоты).

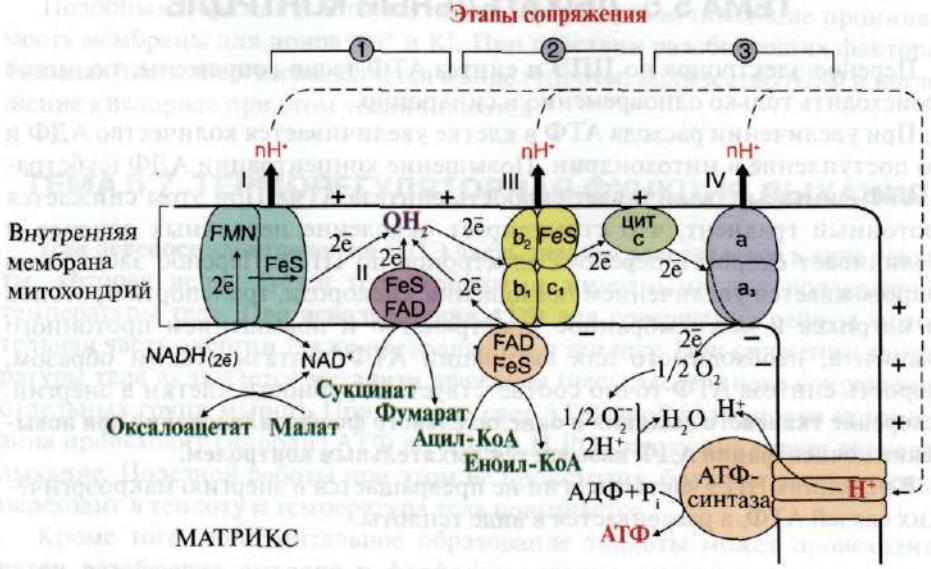


Рис. 5.8. Сопряжение дыхания и синтеза АТФ в митохондриях.

I — NADH — дегидрогеназа; III — QH_2-дегидрогеназа; IV — цитохромоксидаза, V—АТФ-синтаза. Энергия протонного электрохимического потенциала используется для синтеза АТФ, если протоны возвращаются в матрикс через ионные каналы АТФ-синтазы

При участии АТФ-АДФ транслоказы, расположенной во внутренней мембране митохондрий, АТФ транспортируется в цитоплазму в обмен на АДФ. В цитоплазме АТФ используется как источник энергии в различных процессах.

4. Таким образом, **трансформация энергии** в организме проходит следующие этапы.

Энергия химических связей субстратов

↓

Энергия электронов в составе коферментов NADH и $FADH_2$

↓

Энергия электронов, переносимых по ЦПЭ на кислород

↓

Энергия трансмембранного электрохимического потенциала

↓

Энергия химических связей АТФ

На всех этапах этого процесса часть энергии рассеивается в виде теплоты.

ТЕМА 5.5. ДЫХАТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ

Перенос электронов по ЦПЭ и синтез АТФ тесно сопряжены, т.е. могут происходить только одновременно и синхронно.

При увеличении расхода АТФ в клетке увеличивается количество АДФ и его поступление в митохондрии. Повышение концентрации АДФ (субстрата АТФ-синтазы) увеличивает скорость синтеза АТФ. При этом снижается протонный градиент, что стимулирует окисление первичных доноров и увеличивает скорость переноса электронов по ЦПЭ. Перенос электронов сопровождается увеличением поглощения кислорода, транспорта протонов из матрикса в межмембранное пространство и повышением протонного градиента, необходимого для активации АТФ-синтазы. Таким образом, скорость синтеза АТФ точно соответствует потребности клетки в энергии. **Ускорение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования при повышении концентрации АДФ называется дыхательным контролем.**

В реакциях ЦПЭ часть энергии не превращается в энергию макроэргических связей АТФ, а рассеивается в виде теплоты.

ТЕМА 5.6. РАЗОБЩЕНИЕ ДЫХАНИЯ И СИНТЕЗА АТФ

Некоторые **липофильные вещества** (2,4-динитрофенол, некоторые лекарства, жирные кислоты) могут переносить ионы водорода через внутреннюю мембрану митохондрий в матрикс, минуя канал АТФ-синтазы. В результате этого снижается протонный градиент и прекращается синтез АТФ. Это явление называется **разобщением**, а вещества — **разобщителями** дыхания и фосфорилирования (рис. 5.9).

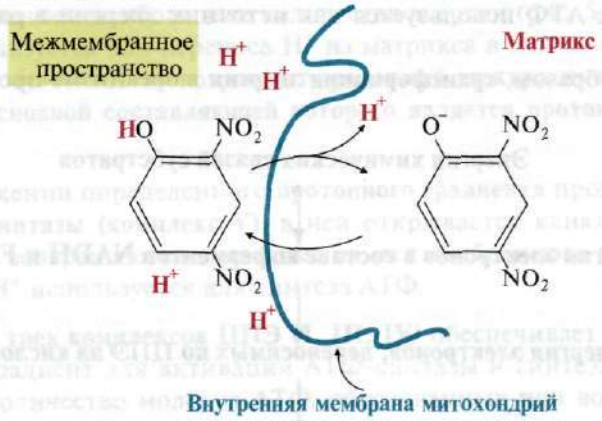


Рис. 5.9. Снижение протонного градиента под влиянием 2,4-динитрофенола.

2,4-Динитрофенол протонируется в межмембранном пространстве, где концентрация протонов выше, и диффундирует через внутреннюю мембрану митохондрий в матрикс. В матриксе, где концентрация протонов ниже, 2,4-динитрофенол теряет протон, переходит в ионизированную форму и может возвращаться в межмембранное пространство

Подобным образом действуют протонофоры, увеличивающие проницаемость мембраны для ионов Na^+ и K^+. При действии разобщающих факторов большая часть энергии выделяется в виде теплоты, количество АДФ и поглощение кислорода при этом увеличиваются.

ТЕМА 5.7. ТЕРМОРЕГУЛЯТОРНАЯ ФУНКЦИЯ ДЫХАНИЯ

При переносе электронов по ЦПЭ часть энергии рассеивается в виде теплоты, которая используется теплокровными животными для поддержания температуры тела. **При использовании АТФ** для совершения работы значительная часть энергии также превращается в теплоту. При снижении температуры тела включается **механизм дрожания** (несогласованного сокращения отдельных групп мышц). При этом за счет АТФазной активности актомиозина происходит гидролиз АТФ до АДФ и H_3PO_4, что стимулирует тканевое дыхание. Полезной работы при этом не происходит, большая часть энергии переходит в теплоту и температура тела повышается.

Кроме того, дополнительное образование теплоты может происходить **путем разобщения дыхания и фосфорилирования** в процессе адаптации к холоду. При охлаждении в жировой ткани из симпатических нервных окончаний освобождается норадреналин, который активирует ТАГ-липазу. При активации липазы в клетках повышается концентрация свободных жирных кислот, которые способны разобщать тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование, участвуя в транспорте протонов через митохондриальную мембрану (рис. 5.10).

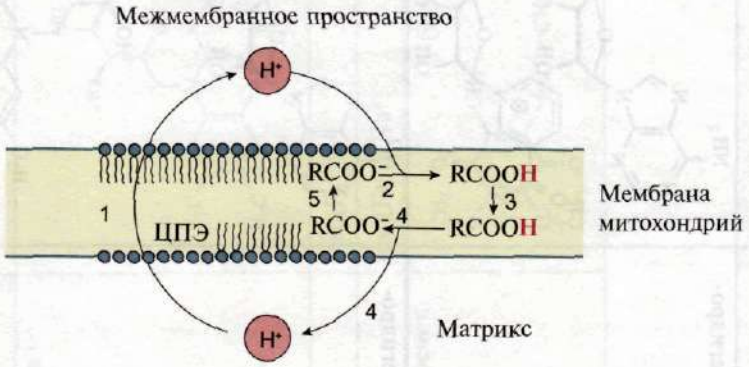


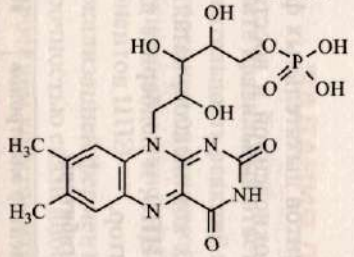
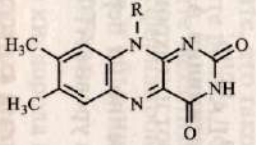
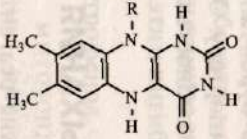
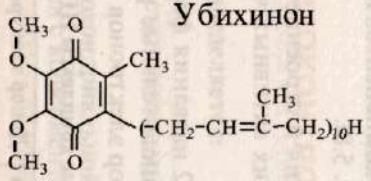
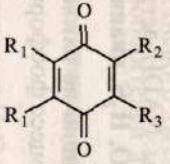
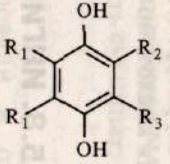
Рис. 5.10. Перенос ионов водорода через внутреннюю мембрану митохондрий при участии жирных кислот:

1 — транспорт H^+при участии ЦПЭ; 2 — протонирование аниона жирной кислоты; 3 — диффузия протонированной жирной кислоты (R-COOH) к внутренней поверхности мембраны митохондрий; 4 — диссоциация R-COOH в мембране и выход протона в матрикс; 5-перенос R-COO− при участии АДФ/АТФ транслоказы к наружной поверхности митохондриальной мембраны

Таблица 5.1. Компоненты митохондриальной ЦПЭ

Фермент	Кофермент	Форма активной части кофермента	
		окисленная	восстановленная
1. NAD-зависимые дегидрогеназы	NAD+	NAD+	NADH + H+
2. FAD-зависимые дегидрогеназы	FAD	FAD	$FADH_2$

Окончание табл. 5.1

Фермент	Кофермент	Форма активной части кофермента	
		окисленная	восстановленная
3. NADH-дегидрогеназа	FMN 	FMN 	$FMNH_2$ 
4. QH_2-*дегидрогеназа*	*Гем* (Fe^{3+})	*Гем* (Fe^{3+})	*Гем* (Fe^{2+})
5. Цитохромоксидаза	Гем (Fe^{3+}), Cu^{2+}	Гем (Fe^{3+}), Cu^{2+}	Гем (Fe^{2+}), Cu^{1+}
Неферментный переносчик электронов	Убихинон 	 Убихинон	 Убихинол

У новорожденных и зимнеспящих животных разобщение связано с наличием разобщающего белка — **термогенина** в бурой жировой ткани. Термогенин близок по структуре к АТФ/АДФ-антипортеру. Он может переносить анионы жирных кислот, но не обладает способностью к транспорту нуклеотидов.

ТЕМА 5.8. ИНГИБИТОРЫ ДЫХАНИЯ

Некоторые лекарственные вещества, химические реагенты и антибиотики вызывают ингибирование ферментов, либо собственно дыхательной цепи, либо окислительного фосфорилирования.

1. Ингибиторы, блокирующие дыхательную цепь: **барбитураты, ротенон** — ингибиторы NADH-дегидрогеназы; **антимицин А** — ингибитор QH_2-дегидрогеназы; **CO, H_2S, цианид** — ингибируют цитохромоксидазу.

2. Антибиотик **олигомицин** не влияет непосредственно на перенос электронов, но ингибирует процесс фосфорилирования на уровне АТФ-синтазы.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Выучите названия компонентов и последовательность реакций в митохондриальной ЦПЭ (рис. 5.8).

2. Запомните названия и строение коферментов дыхательных ферментов и запишите формулы их активных частей в окисленной и восстановленной форме (табл. 5.1).

3. Внесите в табл. 5.2 названия ферментных комплексов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции ЦПЭ, и подберите для каждого из них донор, акцептор электронов и ингибитор.

Таблица 5.2. Ферментные комплексы ЦПЭ и их ингибиторы

Название ферментного комплекса	Донор электронов	Акцептор электронов	Ингибитор

4. Определите различия в энергетическом эффекте окисления малата и сукцината. Для этого:

а) напишите реакции дегидрирования малата и сукцината;
б) нарисуйте схемы, показывающие путь водорода от этих субстратов к кислороду, используя схему ЦПЭ (рис. 5.8);
в) выпишите названия ферментов, обеспечивающих сопряжение дыхания с синтезом АТФ;
г) определите количество этапов сопряжения для каждого субстрата и сравните величины Р/О для них.

5. Определите характер и причины изменений скорости дыхания в эксперименте с изолированными митохондриями при использовании в качестве окисляемого субстрата малата, если:

а) в инкубационную смесь добавить ингибитор NADH-дегидрогеназы;
б) вместе с этим ингибитором добавить сукцинат;
в) цианид;
г) 2,4-динитрофенол.

6. Суспензию митохондрий инкубировали в оптимальных условиях. Поглощение кислорода определяли после добавления АДФ и 2,4-динитрофенола. В обоих случаях поглощение кислорода увеличивалось. Как объяснить результаты эксперимента? Для этого:

а) вспомните, что такое «дыхательный контроль»;
б) объясните роль АДФ в процессе тканевого дыхания;
в) вспомните механизм действия разобщителей дыхания и окислительного фосфорилирования;
г) сравните и объясните причины увеличения поглощения кислорода в обоих случаях.

7. В атмосфере кислорода глюкоза окисляется до H_2O и CO_2. Если окисление глюкозы проводить в атмосфере радиоактивного кислорода, в каком из продуктов окажется метка?

Обоснуйте свой выбор, изобразив необходимые схемы и реакции.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильный ответ.

Последовательность реакций в ЦПЭ определяется:

А. Строением окисляемого субстрата
Б. Величинами окислительно-восстановительных потенциалов компонентов ЦПЭ
В. Локализацией ферментов в митохондриальной мембране
Г. Прочностью связи апоферментов с коферментами.
Д. Строением кофермента.

2. Установите соответствие.

Кофермент:

А. FAD
Б. Гем
В. FMN
Г. NAD^+
Д. Убихинон

Фермент:

1. NADH-дегидрогеназа
2. QH_2-дегидрогеназа
3. Сукцинатдегидрогеназа

3. Выберите правильные ответы.

Реакции, сопряженные с синтезом АТФ:

А. $NADH + H^+ + Q \rightarrow NAD^+ + QH_2$

Б. Сукцинат + Q → Фумарат + QH_2

В. QH_2 + 2 Цит с (Fe^{3+}) → Q + 2 Цит с (Fe^{2+}) + $2H^+$

Г. Малат + NAD^+ → Оксалоацетат + NADH + H^+

Д. 2 Цит с (Fe^{2+}) + O_2 → 2 Цит с (Fe^{3+}) + H_2O

4. Выполните «цепное» задание:

а) одним из первичных доноров водорода для ЦПЭ является:

А. Фумарат

Б. Оксалоацетат

В. Малат

Г. Цитрат

б) окисление этого субстрата катализирует:

А. NAD-зависимая дегидрогеназа

Б. QH_2-дегидрогеназа

В. Цитохромоксидаза

Г. NADH-дегидрогеназа

в) кофермент этого фермента:

А. Убихинон

Б. $NADP^+$

В. NAD^+

Г. FMN

Д. FAD

г) этот кофермент является производным витамина:

А. PP

Б. B_2

В. B_1

Г. B_6

Д. H

д) напишите рабочую часть кофермента в окисленной и восстановленной форме.

5. Выполните «цепное» задание:

а) кофермент изоцитратдегидрогеназы:

А. FMN

Б. Гем

В. FAD

Г. NAD^+

б) этот кофермент образуется из витамина:

А. B_1

Б. H

В. B_2

Г. B_6

Д. PP

в) в восстановленной форме он служит донором водорода для:

А. QH_2-дегидрогеназы

Б. NADH-дегидрогеназы

В. Сукцинатдегидрогеназы

г) этот фермент находится в:

А. Цитозоле

Б. Внутренней мембране митохондрий

В. Межмембранном пространстве

д) он содержит кофермент:

А. FMN

Б. Гем

В. FAD

Г. NAD^+

е) напишите рабочую часть этого кофермента в окисленной и восстановленной форме.

6. Установите соответствие.

Акцептор электронов:

А. Цитохром С

Б. O_2

В. Убихинон

Г. NAD^+

Д. FAD

Фермент

1. NADH-дегидрогеназа
2. QH_2-дегидрогеназа
3. Цитохромоксидаза

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. Б
2. 1—В, 2—Б, 3—А
3. А, В, Д
4. а) В, б) А, в) В, г) А, д) см. табл. 5.1
5. а) Г, б) Д, в) Б, г) Б, д) А, е) см. табл. 5.1
6. 1—В, 2—А, 3—Б

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Обмен веществ
2. Метаболизм
3. Катаболизм
4. Анаболизм
5. Экзергонические реакции
6. Эндергонические реакции

7. АТФ–АДФ цикл
8. Тканевое дыхание
9. Митохондриальная ЦПЭ
10. Окислительное фосфорилирование
11. Сопряжение переноса электронов и синтеза АТФ
12. Коэффициент окислительного фосфорилирования (P/O)
13. Дыхательный контроль
14. Разобщители дыхания и фосфорилирования
15. Ингибиторы дыхания

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. В эксперименте с изолированными митохондриями в качестве окисляемого субстрата использовали малат. В присутствии каких из указанных ниже веществ будет тормозиться окисление этого субстрата? Для подтверждения вашего выбора нарисуйте схему ЦПЭ и объясните, на какие этапы и каким образом влияют выбранные вами соединения:

А — амитал натрия
Б — 2,4 динитрофенол
В — NADH
Г — АДФ
Д — АТФ

2. Митохондрии инкубировали в закрытом сосуде в фосфатном буфере с использованием малата в качестве донора водорода. О скорости реакции судили по поглощению кислорода в опытной пробе (по уменьшению газа в сосуде). После каждого добавления АДФ поглощение кислорода быстро увеличивалось и практически не менялось до добавления следующей порции АДФ. Как это объяснить? (Результаты опыта представлены на рис. 5.11):

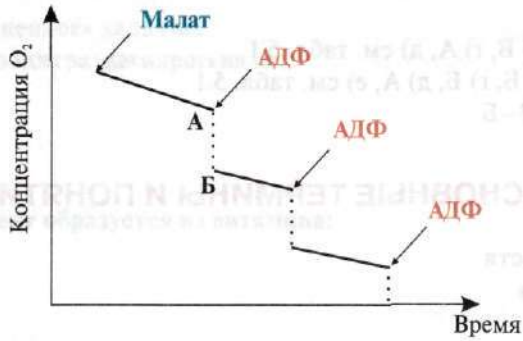


Рис. 5.11. Влияние АДФ на поглощение кислорода митохондриями:

А — объем поглощенного кислорода до добавления АДФ; Б — объем поглощенного кислорода после добавления АДФ

а) напишите реакцию дегидрирования малата и представьте путь электронов и протонов к кислороду, используя схему ЦПЭ;
б) объясните связь между переносом электронов по ЦПЭ и синтезом АТФ;
в) дайте определение понятия «дыхательный контроль»;
г) опишите последовательность событий, происходящих в митохондриях после каждого добавления АДФ.

3. Барбитураты (амитал натрия и др.) используются в медицинской практике как снотворные средства. Однако передозировка этих лекарств, превышающая в 10 раз лечебную дозу, может привести к летальному исходу. На чем основано токсичное действие барбитуратов на организм? Для обоснования ответа:
а) изобразите схему процесса, на который влияют эти препараты;
б) на схеме укажите этап процесса, который первично ингибируется барбитуратами;
в) опишите последствия их действия на организм;
г) объясните причины летального исхода при передозировке этих лекарств.

4. Цианид калия — смертельный яд. Отравления им крайне редки в связи с его недоступностью. Однако встречаются случаи отравления абрикосовыми косточками, содержащими амигдалин, из которого в организме освобождается синильная кислота HCN. Анион этой кислоты обладает высоким сродством к Fe^{3+}, вследствие чего образует с ним прочный комплекс. При отравлении цианидами наблюдается угнетение дыхания, гиперемия кожных покровов и слизистых оболочек, судороги. Характерным признаком отравления является ярко алый цвет венозной крови. Что является причиной возникновения описанных симптомов? Для ответа на вопрос:
а) нарисуйте схему метаболического пути, который нарушается цианидами, *назовите ингибируемый фермент, опишите особенности его* строения и функции;
б) объясните, почему именно этот фермент имеет большее сродство к цианиду, чем другие гемопротеины;
в) объясните алый цвет венозной крови и остановку дыхания при отравлении цианидом?

5. В опытах по изучению механизмов адаптации животных к низким температурам *использовали остриженных (без оперения) голубей, которых выдерживали* в течение нескольких часов при −10 °С. В первые 20—25 минут у животных отмечалось резкое падение температуры тела (до 37,5 °С при норме 41,5 °С), что сопровождалось резкой дрожью. Однако в дальнейшем температура тела голубей оставалась постоянной в течение нескольких часов. Как объяснить наблюдаемые явления? Для объяснения результатов опыта:
а) перечислите механизмы адаптации организма к охлаждению;
б) объясните роль дрожания при охлаждении;
в) назовите другие способы терморегуляции у животных и человека;
г) объясните роль норадреналина в адаптации к охлаждению; изобразите схему, иллюстрирующую механизм его действия.

6. Педиатры рекомендуют родителям не слишком тепло одевать детей для прогулок на воздухе, чтобы не наступало перегрева, повышенной потливости и беспокойства. На чем основана такая рекомендация? Составьте план решения задачи и изобразите необходимые схемы и реакции.

7. В начале 20-го столетия медиками было замечено, что тучные люди, работающие на военных заводах по производству взрывчатых веществ, таких, как 2,4-динитрофенол, быстро теряют избыточный вес. На этом основании в медицине некоторое время применяли 2,4-динитрофенол для похудения как жиросжигающее средство. Однако вскоре препарат прекратили использовать из-за высокой токсичности и тяжелых осложнений со смертельным исходом.

В чем причина высокой токсичности 2,4-динитрофенола? Для ответа на вопрос:

а) напишите формулу 2,4-динитрофенола;

б) опишите механизм его действия и объясните жиросжигающий эффект.

Модульная единица 2
ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП КАТАБОЛИЗМА ПИЩЕВЫХ ВЕЩЕСТВ. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ И ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА (ОПК)

Цели изучения

Уметь:

1. Представлять в виде схемы основные этапы катаболизма пищевых веществ и их связь с цепью переноса электронов.
2. Анализировать изменения энергетического обмена при различных физиологических состояниях организма и при их нарушениях.
3. Объяснять анаболические функции ОПК.

Знать:

1. Строение основных метаболитов цикла трикарбоновых кислот, ферментов, коферментов и последовательность реакций с их участием.
2. Способы регуляции ключевых ферментов общего пути катаболизма и связь скорости дыхания с энергетическим статусом организма.
3. *Основные типы гипоксии; причины и последствия гипоэнергетических состояний.*

ТЕМА 5.9. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП КАТАБОЛИЗМА ПИЩЕВЫХ ВЕЩЕСТВ. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ И ОБЩИЙ ПУТИ КАТАБОЛИЗМА (ОПК)

1. Начальные этапы катаболизма (**специфические пути катаболизма**) основных пищевых веществ (белков, жиров и углеводов) происходят при участии *ферментов специфических для каждого класса веществ и завершаются* образованием двух метаболитов — пировиноградной кислоты (C_3) и уксусной кислоты (C_2) в форме ацетил-КоА (рис. 5.12).

2. После образования пировиноградной кислоты дальнейший путь распада веществ до конечных продуктов CO_2 и H_2O происходит через одну и ту же совокупность реакций независимо от того, из каких исходных субстратов образовался пируват [**общий путь катаболизма (ОПК)**].

Общий путь катаболизма включает:

- реакцию окислительного декарбоксилирования пирувата;
- цитратный цикл (цикл Кребса или цикл трикарбоновых кислот, ЦТК).

3. В общем пути катаболизма образуются **первичные доноры водорода для ЦПЭ, которые окисляются NAD^+-зависимыми и FAD-зависимой дегидрогеназами, передающими водород в ЦПЭ** (рис. 5.13).

Реакции общего пути катаболизма происходят в матриксе митохондрий и восстановленные коферменты передают водород непосредственно на компоненты ЦПЭ, расположенные во внутренней мембране митохондрий.

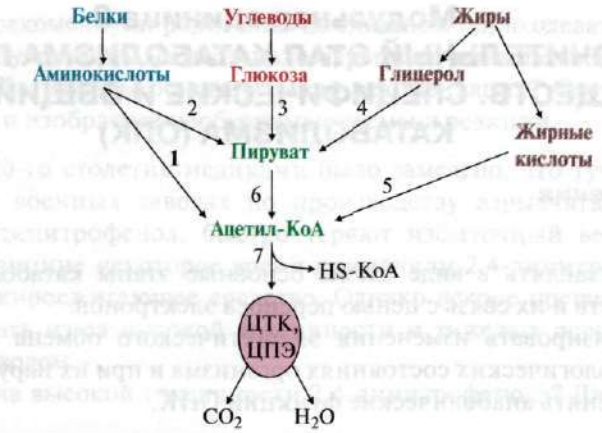


Рис. 5.12. Специфические и общий пути катаболизма:

1–5 — специфические пути катаболизма; 6 — первый этап общего пути катаболизма; 7 — второй этап общего пути катаболизма (цитратный цикл и ЦПЭ)

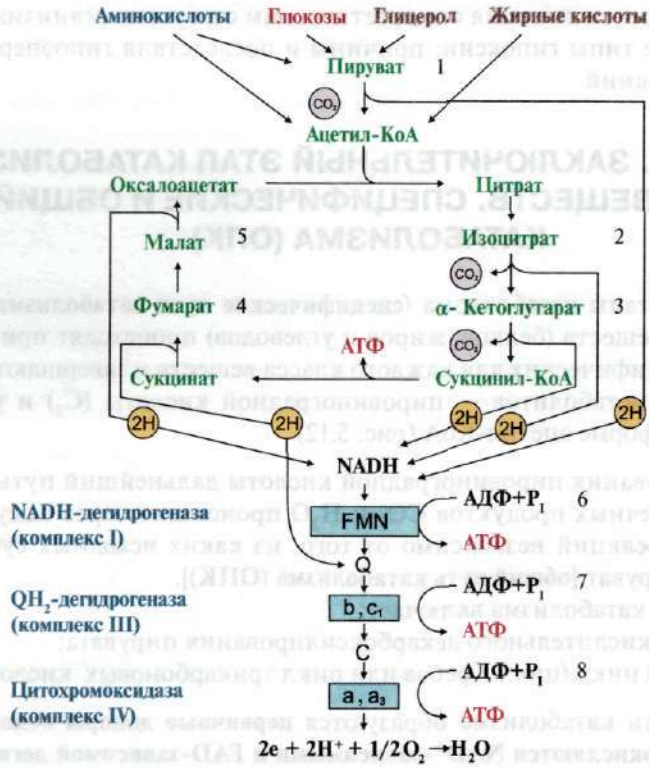


Рис. 5.13. Связь реакций общего пути катаболизма с ЦПЭ:

1–5 – первичные доноры водорода для ЦПЭ; 1, 2, 3, 5 – субстраты NAD-зависимых дегидрогеназ; 4 – субстрат FAD-зависимой сукцинатдегидрогеназы; 6, 7, 8 – этапы сопряжения дыхания и окислительного фосфорилирования

Окислительное декарбоксилирование пирувата

1. Первая реакция ОПК — **реакция окислительного декарбоксилирования пирувата** описывается следующим суммарным уравнением (рис. 5.14).

$$CH_3-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH + NAD^+ + HS\text{-}KoA \rightarrow CH_3-CO\sim SKoA + NADH + H^+ + CO_2$$

Пируват **Ацетил-КоА**

Рис. 5.14. Суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования пирувата

Эту реакцию катализирует сложно организованный **пируватдегидрогеназный комплекс** (ПДК).

1. Пируватдегидрогеназный комплекс (ПДК) состоит из трех типов каталитических протомеров, образующих **три фермента: E_1 — пируватдекарбоксилазу, E_2 — *дигидролипоилтрансацетилазу* и E_3 — *дигидролипоилдегидрогеназу*.** Каждый фермент содержит разное количество протомеров. Протомеры каждого из трех ферментов содержат в своем составе прочно связанные с белками коферменты (табл. 5.2). Коферменты **NAD^+ и HS-KoA** включаются в состав комплекса только в момент реакций и освобождаются при завершении процесса в составе конечных продуктов — **Ацетил-КоА** и **NADH + H^+**.

Таблица 5.3. Пируватдегидрогеназный комплекс (ПДК) млекопитающих

Фермент	Сокращение	Число мономеров	Кофермент	Витамин
1. Пируватдекарбоксилаза	E_1	120 (30 тетрамеров)	ТДФ	B_1
2. Дигидролипоилтрансацетилаза	E_2	180 (60) тримеров	Липоамид HS-KoA	Липоевая кислота (ЛК) Пантотеновая к-та (B_5)
3. Дигидролипоилдегидрогеназа	E_3	12 (6 димеров)	FAD NAD^+	B_2 PP

Все ферменты, входящие в состав комплекса, располагаются в пространстве таким образом, что обеспечивают одновременное протекание однотипных реакций в нескольких местах комплекса. Промежуточные метаболиты передаются от одного активного центра к другому, что делает работу ферментного комплекса максимально эффективной (рис. 5.15). В состав комплекса входят также регуляторные протомеры: киназа и фосфатаза ПДК, *роль которых рассматривается в теме 5.11 (см. рис. 5.22).*

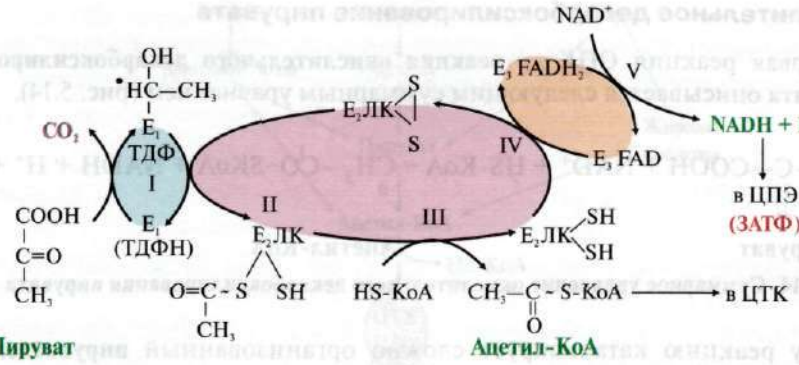


Рис. 5.15. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты.

Каждый фермент, входящий в ПДК, катализирует определенный этап реакции: I — $\mathbf{E_1}$ — пируватдекарбоксилаза катализирует декарбоксилирование пирувата и перенос C_2-фрагмента на ТДФ с образованием гидроксиэтила; II — $\mathbf{E_2}$ — дигидролипоилтрансацетилаза катализирует окисление гидроксиэтильной группы и перенос C_2-фрагмента на амид липоевой кислоты; III — ацетилированная трансацетилаза взаимодействует с HS-KoA с образованием восстановленной формы липоамида и ацетил-KoA; IV — восстановленная форма трансацетилазы дегидрируется дигидролипоилдегидрогеназой ($\mathbf{E_3}$), содержащей FAD; V — $FADH_2$ в составе E_3 дегидрируется при участии NAD^+. В реакциях, катализируемых ПДК, липоевая кислота, связанная в ферменте E_2 с остатками лизина, функционирует как «поворотный кронштейн», переносящий атомы водорода и ацетильные остатки от одного фермента к другому

2. Ацетил-KoA, образовавшийся в реакции, катализируемой ПДК, далее **вступает в цитратный цикл** (рис. 5.16).

Цитратный цикл [цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), цикл Кребса] — основной источник доноров водорода для ЦПЭ. Этот метаболический путь состоит из реакций, в результате которых ацетильный остаток ацетил-KoA окисляется до CO_2 и H_2O. В ацетил-KoA связь между атомами углерода устойчива к окислению; включаясь в цитратный цикл, ацетильный остаток перестраивается и в конечном итоге,углерод ацетильной группы окисляется до двух молекул CO_2, а атомы водорода, освобождающиеся в реакциях дегидрирования, доставляются в ЦПЭ при участии NAD- и FAD-зависимых дегидрогеназ.

- **Первая реакция** цикла представляет собой конденсацию оксалоацетата с ацетил-KoA, катализируемую цитратсинтазой (рис. 5.17). В этой реакции выделяется большое количество энергии ($\Delta G = -8$ ккал/моль), что сдвигает равновесие в сторону образования цитрата и определяет дальнейшее направление реакций ЦТК.

На образование цитрата в каждом обороте цикла затрачивается одна молекула оксалоацетата; по завершении цикла происходит регенерация оксалоацетата. Таким образом, одна молекула оксалоацетата может многократно использоваться для окисления ацетильных остатков, выполняя функцию своеобразного катализатора цикла.

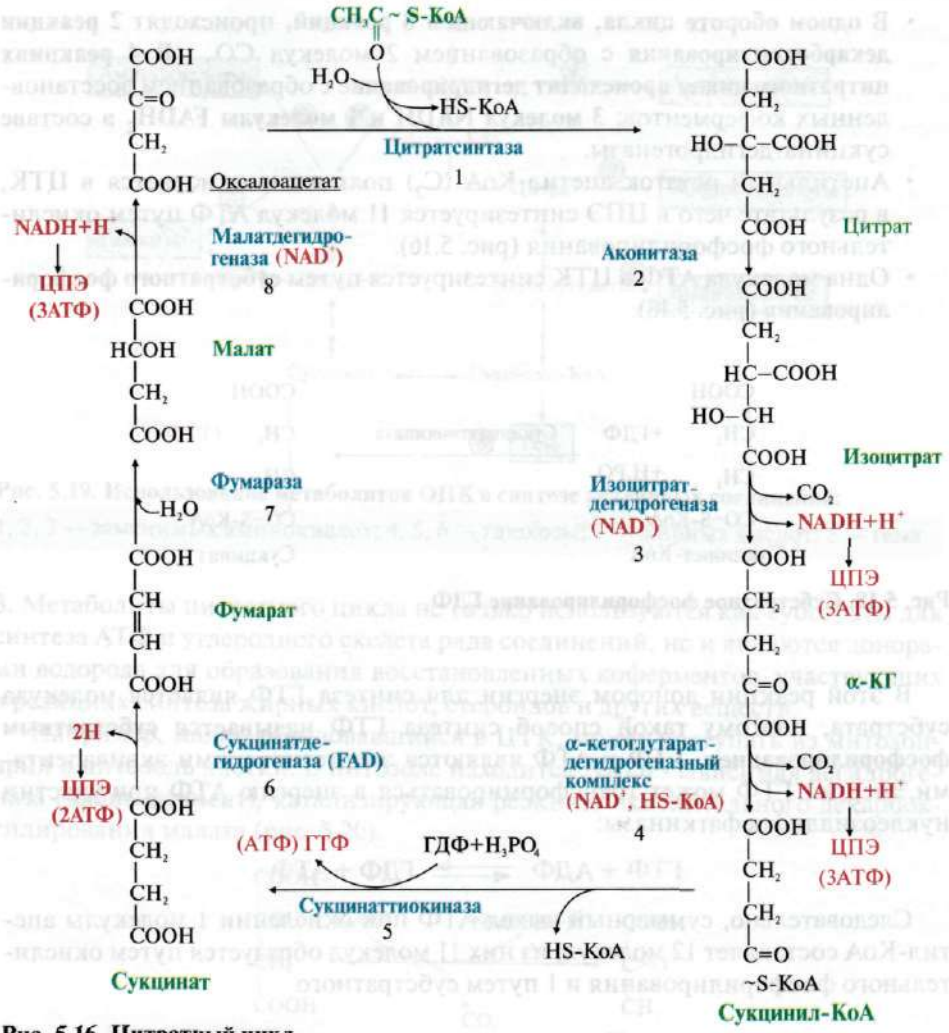


Рис. 5.16. Цитратный цикл.

Цифры 1—8 обозначают реакции одного оборота цикла. На каждую молекулу NADH (реакции 3, 4, 8) в ЦПЭ синтезируется 3 молекулы АТФ; на каждую молекулу $FADH_2$ (реакция 6) — 2 молекулы АТФ. Таким образом, каждый оборот цикла сопровождается синтезом 11молекул АТФ путем окислительного фосфорилирования; 1 молекула АТФ образуется за счет субстратного фосфорилирования (реакция 5)

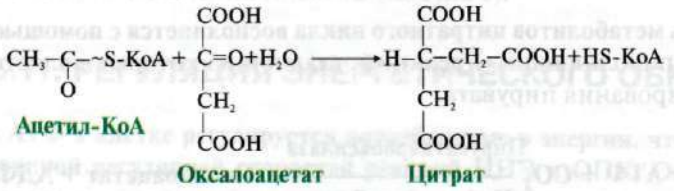


Рис. 5.17. Образование цитрата при участии цитратсинтазы

- **В одном обороте цикла, включающем 8 реакций,** происходят **2 реакции декарбоксилирования** с образованием 2 молекул CO_2 . **В 4 реакциях цитратного цикла происходит дегидрирование** с образованием восстановленных коферментов: **3 молекул NADH и 1 молекулы $FADH_2$** в составе сукцинатдегидрогеназы.
- Ацетильный остаток ацетил-КоА (C_2) полностью окисляется в ЦТК, в результате чего в ЦПЭ синтезируется 11 молекул АТФ путем окислительного фосфорилирования (рис. 5.16).
- Одна молекула АТФ в ЦТК синтезируется путем **субстратного фосфорилирования** (рис. 5.18).

Рис. 5.18. Субстратное фосфорилирование ГДФ

В этой реакции донором энергии для синтеза ГТФ является молекула субстрата, поэтому такой способ синтеза ГТФ называется **субстратным фосфорилированием**. ГТФ и АТФ являются энергетическими эквивалентами.Энергия ГТФ может трансформироваться в энергию АТФ при участии нуклеозиддифосфаткиназы:

$$\text{ГТФ} + \text{АДФ} \rightleftharpoons \text{ГДФ} + \text{АТФ}$$

Следовательно, суммарный выход АТФ при окислении 1 молекулы ацетил-КоА составляет 12 молекул; из них 11 молекул образуется путем окислительного фосфорилирования и 1 путем субстратного.

ТЕМА 5.10. АНАБОЛИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ОБЩЕГО ПУТИ КАТАБОЛИЗМА (ОПК)

1. Метаболиты ОПК служат предшественниками в синтезе ряда веществ в организме: аминокислот, глюкозы, жирных кислот и других соединений (рис. 5.19).

2. Убыль метаболитов цитратного цикла восполняется с помощью анаплеротических («пополняющих») реакций, главной из которых является реакция карбоксилирования пирувата.

$$\text{Пируват} + \text{АТФ} + CO_2 \xrightarrow[\text{Кофермент-биотин}]{\text{Пируваткарбоксилаза}} \text{Оксалоацетат} + \text{АДФ} + H_3PO_4$$

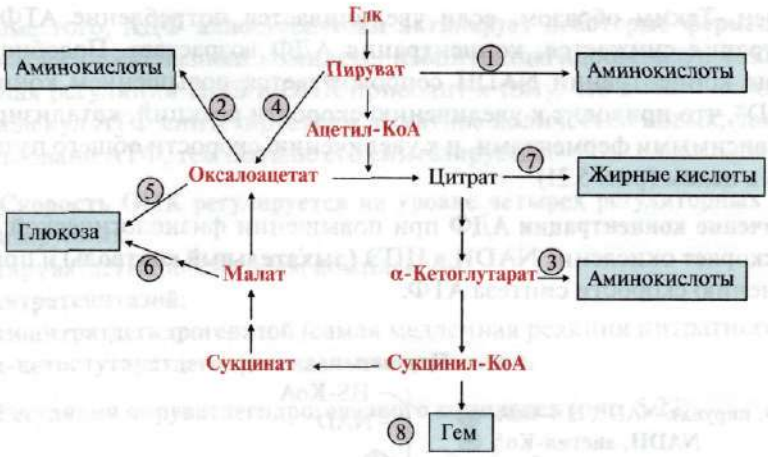


Рис. 5.19. Использование метаболитов ОПК в синтезе различных соединений:
1, 2, 3 — заменимых аминокислот; 4, 5, 6 — глюкозы; 7 — жирных кислот; 8 — гема

3. Метаболиты цитратного цикла не только используются как субстраты для синтеза АТФ и углеродного скелета ряда соединений, но и являются донорами водорода для образования восстановленных коферментов, участвующих в реакциях синтеза жирных кислот, стероидов и других веществ.

Например, малат, образовавшийся в ЦТК, может поступать из митохондрий в цитозоль клетки. В цитозоле находится NADP-зависимая дегидрогеназа (**малик фермент**), катализирующая реакцию окислительного декарбоксилирования малата (рис. 5.20).

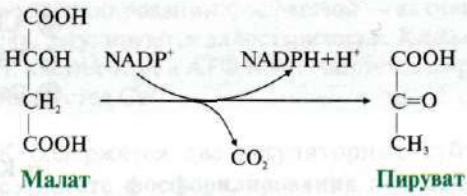


Рис. 5.20. Реакция, катализируемая малик ферментом

Эта реакция служит одним из важнейших, хотя не единственным источником NADPH, который образуется также в окислительных реакциях пентозофосфатного пути окисления глюкозы (модуль 6).

ТЕМА 5.11. РЕГУЛЯЦИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА

1. Синтез АТФ в клетке регулируется потребностью в энергии, что достигается согласованной регуляцией скоростей реакций ЦПЭ и ОПК. Основными сигналами о состоянии энергетического обмена служат уровень АТФ и АДФ, NAD^+ и NADH. Общий фонд этих метаболитов в клетке относительно

постоянен. Таким образом, если увеличивается потребление АТФ и его концентрация снижается, концентрация АДФ возрастает. Подобно этому снижение концентрации NADH сопровождается повышением концентрации NAD^+, что приводит к увеличению скорости реакций, катализируемых NAD-зависимыми ферментами, и к увеличению скорости общего пути катаболизма в целом (рис. 5.21).

2. Увеличение концентрации АДФ при повышении физиологической активности ускоряет окисление NADH в ЦПЭ **(дыхательный контроль)** и приводит к увеличению скорости синтеза АТФ.

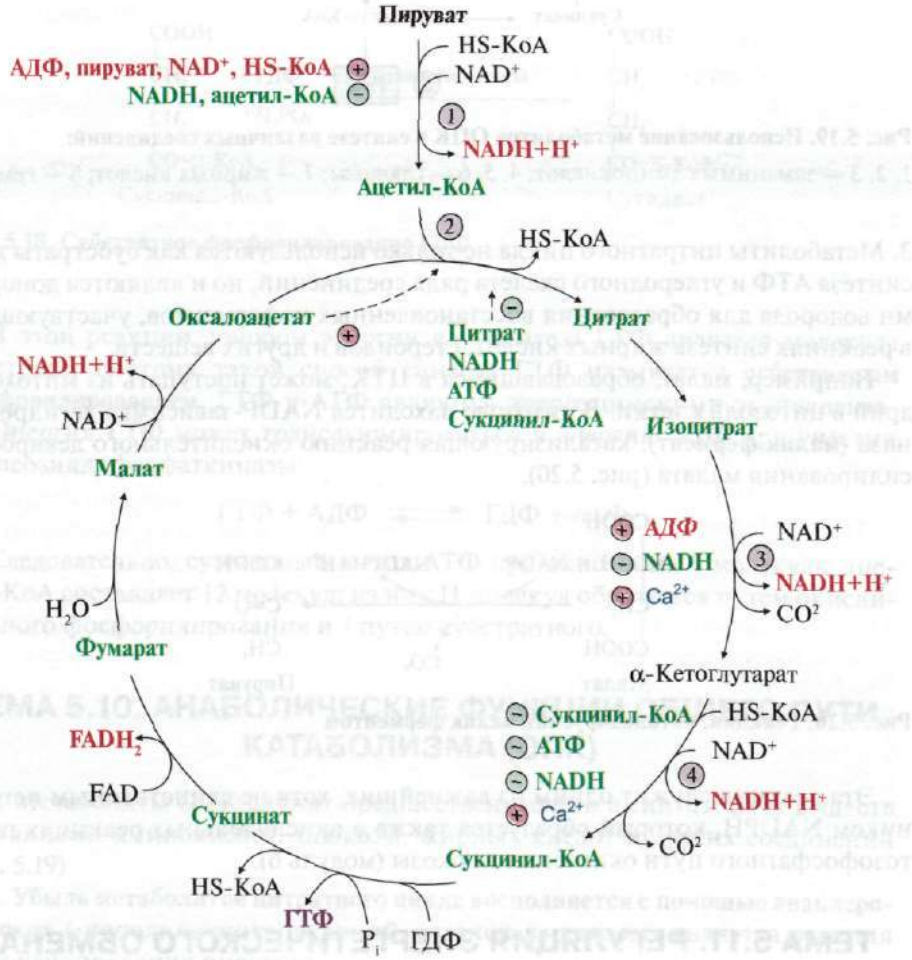


Рис. 5.21. Регуляция общего пути катаболизма.

Скорость ОПК регулируется на уровне четырех регуляторных реакций, катализируемых: 1—пируватдегидрогеназным комплексом; 2—цитратсинтазой; 3-изоцитратдегидрогеназой; 4—α-кетоглутаратдегидрогеназным комплексом

3. Кроме того, **АДФ аллостерически активирует некоторые ферменты ОПК** (пируватдегидрогеназный комплекс, изоцитратдегидрогеназу). Такая согласованная регуляция ЦПЭ и ОПК приводит к тому, что вместо использованных молекул АТФ синтезируется адекватное количество новых; чем больше использовано АТФ, тем больше его синтезируется.

4. Скорость ОПК регулируется на уровне четырех регуляторных реакций, катализируемых:

- пируватдегидрогеназным комплексом;
- ***цитратсинтазой;***
- **изоцитратдегидрогеназой** (самая медленная реакция цитратного цикла);
- **α-кетоглутаратдегидрогеназным комплексом.**

5. Регуляция пируватдегидрогеназного комплекса (рис. 5.22).

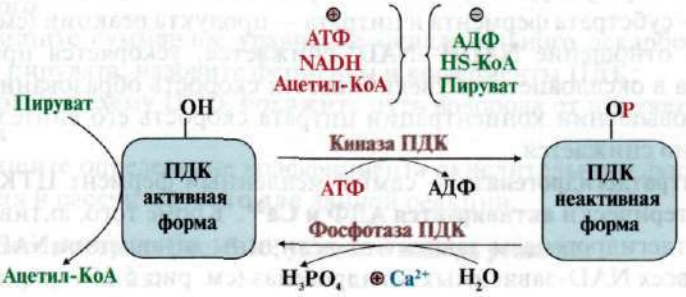


Рис. 5.22. Регуляция пируватдегидрогеназного комплекса.

В составе ПДК содержатся две регуляторные субъединицы — киназа и фосфатаза. В результате фосфорилирования под действием киназы ПДК переходит в неактивную форму, при дефосфорилировании фосфатазой — активируется. Киназа и фосфатаза, в свою очередь, регулируются аллостерически. Киназа ПДК аллостерически активируется NADH, ацетил-КоА и АТФ и ингибируется пируватом, АДФ, HS-КоА, Ca^2. Фосфатаза активируется Ca^{2+}

В составе ПДК содержатся две регуляторные субъединицы — киназа и фосфатаза. В результате **фосфорилирования** под действием киназы ПДК переходит в **неактивную форму**, при **дефосфорилировании фосфатазой** — активируется. Киназа и фосфатаза, в свою очередь, регулируются аллостерически. **Киназа ПДК аллостерически активируется NADH, ацетил-КоА и АТФ и ингибируется пируватом, АДФ, HS-КоА, Ca^{2+}**. В **абсорбтивный период** глюкоза поступает в клетки и распадается с образованием пирувата. Высокая концентрация **пирувата** влияет на **активность ПДК** двумя способами:

– поддерживает *ПДК* в **дефосфорилированной активной форме**, так как пируват **наиболее сильный ингибитор киназы ПДК;**

– **пируват аллостерически активирует дефосфорилированную активную форму ПДК**, действуя согласованно **с другими активаторами —** субстратами реакций — **NAD^+ и HS-КоА**. В результате создаются условия для образования ацетил-КоА из глюкозы. В **печени** ацетил-КоА **используется для синтеза жирных кислот**.

- **В адипоцитах под влиянием инсулина** увеличивается концентрация Ca^{2+} в митохондриях, что **активирует фосфатазу пируватдегидрогеназного комплекса** и переводит его в активное дефосфорилированное состояние. В результате создаются условия для превращений: **пируват → ацетил-КоА → жирные кислоты → жиры** (основная форма запасания энергии в организме).
- **Регуляция ионами Ca^{2+} особенно важна в мышцах**. Потенциал действия увеличивает концентрацию Ca^{2+} в митохондриях, что одновременно ингибирует киназу и активирует фосфатазу; это быстро переводит ПДК в активную дефосфорилированную форму. Одновременно Ca^{2+} активирует регуляторные ферменты ЦТК и ацетил-КоА быстро окисляется, обеспечивая синтез АТФ для мышц.
- **Цитратсинтаза** не является аллостерическим ферментом. Активность фермента регулируется, главным образом, концентрациями оксалоацетата — субстрата фермента и цитрата — продукта реакции (см. рис. 5.21). Когда отношение **NADH—NAD$^+$** снижается, ускоряется превращение малата в оксалоацетат и увеличивается скорость образования цитрата; при повышении концентрации цитрата скорость его синтеза соответственно снижается.
- **Изоцитратдегидрогеназа** — самый медленный фермент ЦТК. Фермент аллостерически **активируется АДФ и Ca^{2+}**. Кроме того, активность изоцитратдегидрогеназы зависит от величины отношения **NADH—NAD$^+$**, как у всех NAD-зависимых дегидрогеназ (см. рис. 5.21).
- **α-Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс** по структуре и функциям сходен с ПДК. В его состав входят 3 ферментных комплекса: α-кетоглутаратдекарбоксилаза, дигидролипоилтранссукцинилаза и дигидролипоилдегидрогеназа. Набор коферментов аналогичен таковому в ПДК. Однако в отличие от ПДК в этом комплексе отсутствуют регуляторные протомеры. Активность фермента зависит от концентраций АТФ и АДФ, NAD$^+$ и NADH, ингибируется сукцинил-КоА и активируется **Ca^{2+}** (рис. 5.21).

ТЕМА 5.12. ГИПОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ

1. Состояния, при которых синтез АТФ снижен, объединяют термином «гипоэнергетические». Причинами гипоэнергетических состояний могут быть: голодание, гиповитаминозы B_1, PP, B_2, гипоксия.

Гипоксия может возникать:

- при недостатке кислорода во вдыхаемом воздухе;
- при заболеваниях легких и нарушении легочной вентиляции;
- при нарушениях кровообращения, вызванных заболеваниями сердца, спазмом и тромбозом сосудов, кровопотерей.
- наследственные или приобретенные нарушения структуры гемоглобина (гемоглобинопатии);
- нарушения процессов использования кислорода в клетках (тканевая гипоксия).

Причинами тканевой гипоксии могут быть:

- действие ингибиторов и разобщителей в ЦПЭ;
- железодефицитные анемии;
- снижение уровня гемоглобина и других железосодержащих белков (цитохромов, FeS-белков), в результате чего нарушается перенос электронов и синтез АТФ;
- наследственные дефекты ферментов ЦПЭ и цитратного цикла.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Определите количество моль АТФ, синтезируемое за счет окисления 1 моль пирувата.

Для этого:

а) напишите суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования пирувата, назовите ферменты и коферменты ПДК;

б) используя схему ЦПЭ, покажите путь водорода от пирувата до кислорода;

в) напишите определение коэффициента окислительного фосфорилирования и рассчитайте его для данной реакции.

2. Перенесите в тетрадь рис. 5.16, укажите номера реакций:

а) дегидрирования;

б) субстратного фосфорилирования;

в) декарбоксилирования;

г) происходящих с использованием коферментов, производных витаминов B_1, B_2, PP.

3. Используя схему связи общего пути катаболизма с ЦПЭ (см. рис. 5.13), проследите путь водорода от окисляемых субстратов к кислороду и оцените выход АТФ для отдельных реакций и общего пути катаболизма в целом.

4. В уравнение окислительного декарбоксилирования пирувата подставьте соответствующие стехиометрические коэффициенты.

$$CH_3-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH + 3H_2O + ?NAD^+ + ?Q \rightarrow ?CO_2 + ?(NADH + H^+) + QH_2$$

Для этого:

а) найдите на рис. 5.13 реакции, в которых происходит декарбоксилирование, напишите эти реакции формулами;

б) реакции дегидрирования и напишите эти реакции; определите коэффициенты P/O для каждой из них;

в) изобразите схему ЦПЭ и отметьте компоненты цепи, на которые поступает водород от первичных доноров; определите коэффициенты P/O для каждой из них.

5. Изучите схему регуляции ОПК (рис. 5.21) и заполните табл. 5.4.

Таблица 5.4. Регуляции ОПК

Регуляторные ферменты ОПК	Активаторы	Ингибиторы
1.		
2.		
3.		
4.		

6. При добавлении к суспензии митохондрий малоновой кислоты, структурного аналога сукцината, происходило резкое снижение поглощения клетками кислорода. Добавление цитрата не влияло на потребление кислорода, в то время как добавление фумарата оказывало стимулирующий эффект. Объясните результаты эксперимента. Для этого:

а) найдите на схеме ЦТК реакцию, которая ингибируется малонатом и запишите ее;

б) проследите по схеме цитратного цикла пути превращений фумарата и цитрата и объясните, как повлияет присутствие малоната на эти реакции.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Подберите ферменты к соответствующим реакциям:

1) Пируват + ТДФ—E_1 →

$$CO_2 + CH_3{-}\underset{\underset{OH}{|}}{CH}{-}ТДФ{-}E_1$$

2) $E_3{-}FAD \cdot H_2 + NAD^+ \rightarrow E_3{-}FAD + NADH + H^+$

3) $$\begin{array}{l} SH \\ | \\ E_2 \\ | \\ S\text{-}CO\text{-}CH_3 \end{array} + HS\text{-}KoA \rightarrow \begin{array}{l} SH \\ | \\ E_2 \\ | \\ SH \end{array} + \text{Ацетил-KoA}$$

А. Пируватдекарбоксилаза

Б. Пируваткарбоксилаза

В. Дигидролипоилдегидрогеназа

Г. Дигидролипоилтрансацетилаза

Д. Сукцинатдегидрогеназа

2. Установите соответствие.

Фермент:

А. Фумараза

Б. Цитратсинтаза

В. Сукцинаттиокиназа

Г. Изоцитратдегидрогеназа

Д. Малатдегидрогеназа

Реакция:

1. Оксалоацетат + Ацетил-КоА + H_2O → Цитрат + HS-КоА
2. Изоцитрат + NAD^+ → α-Кетоглутарат + CO_2 + NADH + H^+
3. Сукцинил-КоА + ГДФ + H_3PO_4 → Сукцинат + ГТФ + HS-КоА

3. Установите соответствие.

Фермент:

А. Сукцинатдегидрогеназа

Б. Изоцитратдегидрогеназа

В. NADH-дегидрогеназа

Г. Пируватдекарбоксилаза

Д. Пируваткарбоксилаза

Кофермент:

1. FAD
2. ТДФ
3. FMN

4. Выполните «цепное» задание:

а) реакцию образования ацетил-КоА из пирувата катализирует:

А. Пируватдегидрогеназный комплекс

Б. α-Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс

В. Ацетил-КоА карбоксилаза

б) этот комплекс содержит в своем составе:

А. Пируватдекарбоксилазу

Б. NADH-дегидрогеназу

В. АТФ-синтазу

Г. Пируваткарбоксилазу

в) коферментом этого фермента является:

А. HS-КоА

Б. NAD+

В. ТДФ

Г. FMN

Д. FAD

г) этот кофермент участвует в переносе ацетильного остатка на:

А. Липоевую кислоту

Б. Дигидролипоилдегидрогеназу

В. HS-КоА

Г. ТДФ

д) при взаимодействии этого соединения с коферментом А образуется:

А. Пируват
Б. Оксалоацетат
В. Ацетил-КоА
Г. Цитрат
Д. Сукцинил-КоА

5. Выберите правильные ответы.

К тканевым формам гипоэнергетических состояний относятся:

А. Недостаток O_2 во вдыхаемом воздухе
Б. Гиповитаминозы витаминов B_1, B_2, PP
В. Нарушение кровообращения
Г. Действие разобщителей дыхания и фосфорилирования
Д. Железодефицитные анемии

6. Выберите правильные ответы.

Скорость реакций ОПК снижается при недостатке витаминов:

А. Тиамин
Б. Пиридоксин
В. Пантотеновая кислота
Г. Никотинамид
Д. Рибофлавин

7. Установите соответствие.

Кофермент:

А. HS-КоА
Б. Липоамид
В. ТДФ
Г. FAD
Д. NAD+

Витамин:

1. Тиамин (B_1)
2. Рибофлавин (B_2)
3. Пантотеновая кислота (B_5)

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. 1—А, 2—В, 3—Г
2. 1—Б, 2—Г, 3—В
3. 1—А; 2—Г; 3—В
4. а) А, б) А, в) В, г) А, д) В
5. Б, Г, Д
6. А, В, Г, Д
7. 1—В, 2—Г, 3—А

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Специфические пути катаболизма
2. Общий путь катаболизма
3. Окислительное декарбоксилирование пирувата
4. Цикл трикарбоновых кислот
5. Субстратное фосфорилирование
6. Анаболические функции ОПК
7. Анаплеротические реакции ОПК
8. *Регуляторные ферменты ОПК*
9. Терморегуляторная функция тканевого дыхания
10. Гипоэнергетические состояния
11. Тканевая гипоксия

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Глутамат легко образуется из α-КГ путем аминирования:

$$\alpha\text{-КГ} + NH_3 + NADH + H^+ \rightarrow \text{Глу} + NAD^+.$$

Определите, сколько молекул пирувата, требуется затратить на синтез одной молекулы глутамата, чтобы концентрация метаболитов цитратного цикла оставалась постоянной.

Алгоритм решения задачи:

а) используя схему ОПК (рис. 5.19), определите, какие соединения должны образоваться из пирувата, чтобы «запустить» цитратный цикл;

б) напишите реакции превращения пирувата в эти соединения, составьте схему их превращений до образования α-КГ;

в) проведите необходимые расчеты, учитывая, что оксалоацетат должен быть в избытке, чтобы цитратный цикл не прерывался.

2. Синтез гема происходит в ретикулоцитах. Для синтеза одного пиррольного кольца используются две молекулы глицина и две молекулы сукцинил-КоА. Рассчитайте, сколько молекул пирувата необходимо затратить для синтеза одной молекулы гема, чтобы концентрация метаболитов цитратного цикла оставалась постоянной.

Решите задачу, предварительно составив алгоритм решения по образцу предыдущей.

3. В суспензию митохондрий добавили 2 ммоль цитрата и 2 ммоль АДФ. *Скорость окисления субстрата измеряли по поглощению кислорода.* Через некоторое время реакция прекратилась. Почему?

Для решения задачи:

а) напишите реакции превращения цитрата в ЦТК до образования α-КГ;

б) определите, какой этап этих превращений сопряжен с поглощением кислорода и использованием АДФ; назовите окисляемый субстрат;

в) представьте в виде схемы ЦПЭ путь водорода от окисляемого субстрата к кислороду; определите коэффициент Р/О.

г) проведите необходимые расчеты и ответьте на вопросы:

1. Сколько ммоль субстрата осталось неокисленным?
2. Какое вещество (или вещества) можно добавить, чтобы реакция возобновилась?

4. У пациента выявлен генетический дефект пируваткарбоксилазы.

К каким последствиям это может привести?

Для решения задачи:

а) напишите реакцию, катализируемую этим ферментом;

б) используя рис. 5.19, выпишите названия метаболических путей, в которых используется продукт этой реакции;

в) сделайте выводы о последствиях нарушений этих процессов.

5. Митохондриальная ДНК кодирует 13 субъединиц белковых комплексов, участвующих в ЦПЭ: 7 из 42 субъединиц комплекса I, 1 из 11 субъединиц комплекса III, 3 из 13 субъединиц комплекса IV и 2 субъединицы АТФ-синтазы. Мутации в митохондриальной ДНК приводят к возникновению наследственных заболеваний, которые наследуются по материнской линии, так как митохондриальная ДНК передается с цитоплазмой яйцеклеток. Характерными клиническими признаками заболеваний являются: мышечная слабость, миокардиопатия, задержка умственного развития у детей. Как объяснить возникновение указанных симптомов? Для ответа на вопрос:

- нарисуйте схему ЦПЭ и укажите этапы, которые нарушаются при мутациях митохондриальной ДНК;
- напишите реакции ОПК, катализируемые регуляторными ферментами; опишите механизы их регуляции и объясните причины снижения активности ферментов при нарушении работы дыхательной цепи;
- почему при описанных заболеваниях в первую очередь нарушается метаболизм в мышечной и нервной тканях?

6. Апоптоз — это запрограммированная гибель клеток. При некоторых патологических состояниях (вирусные инфекции, радиация, действие химических веществ, являющихся оксидантами) может происходить преждевременная гибель клеток. В организме человека вырабатываются защитные белки, предотвращающие преждевременный апоптоз. Одним из них является белок Bcl-2, который увеличивает отношение $NADH—NAD^+$ и ингибирует освобождение Ca^{2+} из ЭПР. В настоящее время известно, что вирус СПИДа содержит протеазу, разрушающую Bcl-2. Скорость каких реакций при этом меняется и почему?

Для ответа на вопрос:

- нарисуйте схему процесса, скорость которого регулируется отношением $NADH/ NAD^+$;
- назовите регуляторные ферменты, опишите их строение и роль в энергетическом обмене;
- объясните, как изменится скорость этих реакций при разрушении Bcl-2;
- объясните, почему эти изменения могут оказаться губительными для клеток.

Модуль 6

ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

Структура модуля	Темы
Модульная единица 1	6.1. Основные углеводы пищи. Строение, переваривание и всасывание 6.2. Трансмембранный перенос глюкозы и других моносахаридов из кишечника в кровь и из крови в клетки тканей. Пути превращения глюкозы в клетках 6.3. Синтез гликогена (гликогеногенез), мобилизация гликогена (гликогенолиз). Регуляция процессов 6.4. Нарушения переваривания и всасывания углеводов, синтеза и распада гликогена
Модульная единица 2	6.5. Катаболизм глюкозы: аэробный и анаэробный гликолиз. Аэробный распад глюкозы до CO_2 и H_2O 6.6. Биологическое значение катаболизма глюкозы. Регуляция процесса 6.7. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы
Модульная единица 3	6.8. Синтез глюкозы (глюконеогенез) 6.9. Регуляция гликолиза и глюконеогенеза в печени 6.10. Регуляция содержания глюкозы в крови, гиперглюкоземия

Модульная единица 1
СТРОЕНИЕ, ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ УГЛЕВОДОВ. СИНТЕЗ И МОБИЛИЗАЦИЯ ГЛИКОГЕНА, РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ. НАРУШЕНИЯ ПЕРЕВАРИВАНИЯ УГЛЕВОДОВ, СИНТЕЗА И МОБИЛИЗАЦИИ ГЛИКОГЕНА

Цели изучения

Уметь:

1. Объяснять роль углеводов в метаболизме человека.
2. Объяснять клинические проявления нарушений переваривания и всасывания углеводов для понимания патогенеза ряда заболеваний желудочно-кишечного тракта.
3. Оценивать значение синтеза и распада гликогена для поддержания гомеостаза глюкозы.
4. Объяснять молекулярные механизмы нарушений обмена гликогена.

Знать:

1. Строение основных углеводов пищи. Суточную норму углеводов в питании.
2. Причины и клинические проявления нарушений переваривания лактозы и других дисахаридов.
3. Этапы синтеза гликогена. Особенности мобилизации гликогена в печени и мышцах.
4. Механизмы влияния инсулина, глюкагона и адреналина на обмен гликогена в печени и мышцах.
5. Причины и клинические проявления гликогеновых болезней.

ТЕМА 6.1. ОСНОВНЫЕ УГЛЕВОДЫ ПИЩИ. СТРОЕНИЕ, ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ

1. Основным источником углеводов организма являются углеводы пищи, к которым относится крахмал. Кроме того, в пище содержатся глюкоза, фруктоза, сахароза и лактоза.

Крахмал представляет собой разветвленный полисахарид, мономером которого является глюкоза. Мономеры линейных участков соединены α1.4-гликозидными связями, а в местах разветвления α1,6-связью. Цепи между участками ветвления содержат примерно 24 мономера. Крахмал поступает в организм в составе растительной пищи.

Лактоза содержится в молоке и является основным углеводом в питании грудных детей. Лактоза состоит из остатков D-галактазы и D-глюкозы, связанных β1,4-гликозидной связью.

Сахароза — дисахарид растений, особенно ее много в сахарной свекле и сахарном тростнике. В сахарозе остатки D-глюкозы и D-фруктозы соединены α,β1,2-гликозидной связью.

Мальтоза поступает с продуктами, в которых крахмал частично гидролизован (солод, пиво). Мальтоза состоит из двух остатков D-глюкозы, соединенных α1,4-гликозидной связью. **Глюкоза и фруктоза** являются моносахаридами и содержатся в меде и фруктах.

Норма углеводов в питании составляет 400—500 г в сутки. Углеводы обеспечивают более 50% калорий, необходимых человеку в сутки.

Пищевые углеводы — полимеры и димеры — подвергаются перевариванию в пищеварительном тракте под действием ферментов, которые гидролизуют гликозидные связи и образуют мономеры, способные всасываться, поступать в кровь, а затем в ткани (рис. 6.1).

2. Переваривание углеводов. Амилаза слюны расщепляет α1,4-гликозидные связи в крахмале. В ротовой полости происходит лишь частичное переваривание крахмала, так как действие фермента на крахмал кратковременно. Основными продуктами переваривания крахмала в ротовой области являются декстрины.

Желудочный сок не содержит ферментов, расщепляющих пищевые углеводы. Амилаза слюны инактивируется в желудке, так как оптимальное

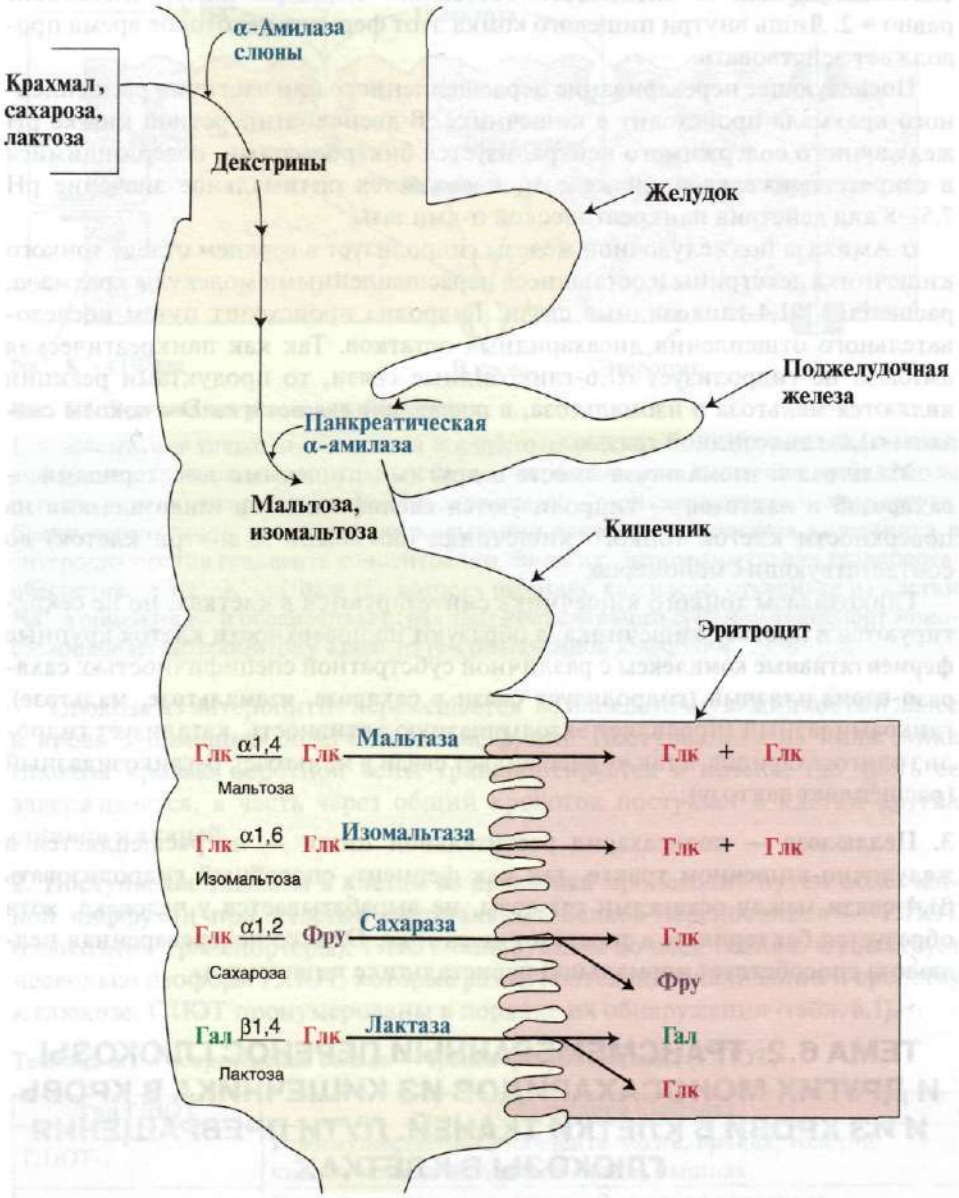


Рис. 6.1. Переваривание углеводов.

Ферменты тонкого кишечника, гидролизующие дисахариды, образуют фементативные комплексы, локализованные на поверхности энтероцитов: сахаразо-изомальтазный (включает сахаразу, мальтазу и изомальтазу), гликоамилазный (включает ферменты, расщепляющие олигосахариды и мальтозу), β-гликозидазный (проявляет активность лактазы)

Глк—глюкоза, Фру—фруктоза, Гал—галактоза

значение pH для ее активности составляет 6,7, а pH желудочного сока равно ≈ 2. Лишь внутри пищевого комка этот фермент некоторое время продолжает действовать.

Последующее переваривание нерасщепленного или частично расщепленного крахмала происходит в кишечнике. В двенадцатиперстной кишке pH желудочного содержимого нейтрализуется бикарбонатами, содержащимися в секрете поджелудочной железы, и создается оптимальное значение pH 7,5—8 для действия панкреатической α-амилазы.

α-Амилаза поджелудочной железы гидролизует в верхнем отделе тонкого кишечника декстрины и оставшиеся нерасщепленными молекулы крахмала, расщепляя α1,4-гликозидные связи. Гидролиз происходит путем последовательного отщепления дисахаридных остатков. Так как панкреатическая амилаза не гидролизует α1,6-гликозидные связи, то продуктами реакции являются мальтоза и изомальтоза, в последней два остатка D-глюкозы связаны α1,6-гликозидной связью.

Мальтоза и **изомальтоза** вместе с другими пищевыми дисахаридами — **сахарозой** и **лактозой** — гидролизуются **специфическими гликозидазами** на поверхности клеток тонкого кишечника (возможно и внутри клеток) до соответствующих мономеров.

Гликозидазы тонкого кишечника синтезируются в клетках, но не секретируются в просвет кишечника, а образуют на поверхности клеток крупные **ферментативные комплексы** с различной субстратной специфичностью: **сахаразо-изомальтазный** (гидролизует связи в **сахарозе, изомальтозе, мальтозе**), гликоамилазный (проявляет экзоамилазную активность, катализует гидролиз олигосахаридов, а также расщепляет связи в мальтозе), β-гликозидазный (расщепляет лактозу).

3. Целлюлоза — полисахарид растительной пищи — не расщепляется в желудочно-кишечном тракте, так как фермент, способный гидролизовать β1,4-связи между остатками глюкозы, не вырабатывается у человека, хотя образуется бактериями в толстом кишечнике. Однако непереваренная целлюлоза способствует нормальной перистальтике кишечника.

ТЕМА 6.2. ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ПЕРЕНОС ГЛЮКОЗЫ И ДРУГИХ МОНОСАХАРИДОВ ИЗ КИШЕЧНИКА В КРОВЬ И ИЗ КРОВИ В КЛЕТКИ ТКАНЕЙ. ПУТИ ПРЕВРАЩЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ В КЛЕТКАХ

1. Транспорт моносахаридов из просвета кишечника в клетки слизистой осуществляется путем **облегченной диффузии и активного транспорта** (рис. 6.2). В случае активного транспорта глюкоза и Na^+ проходят с люминальной стороны, связываясь с разными участками белка-переносчика. При этом Na^+ поступает в клетку по градиенту и «тащит» глюкозу за собой (вторично-активный транспорт). Градиент концентрации Na^+ создается работой Na^+, K^+-АТФазы (первично-активный транспорт, см. модуль 4).

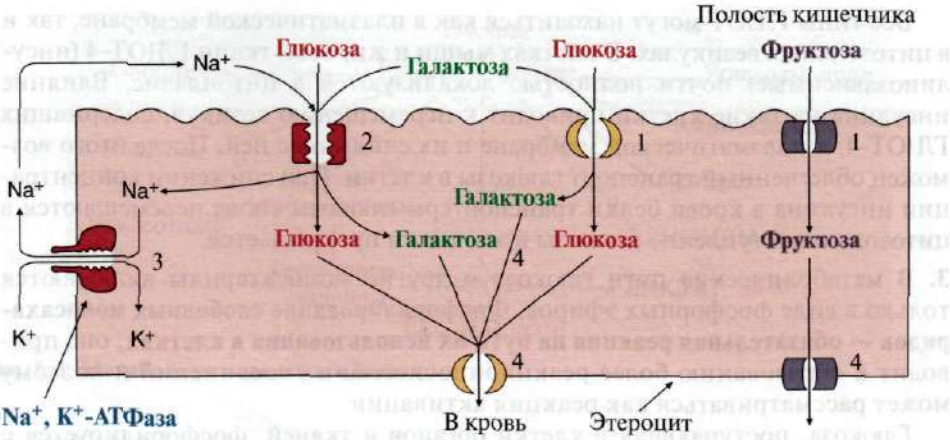


Рис. 6.2. Всасывание углеводов в кишечник:

1 — всасывание глюкозы, галактозы и фруктозы из кишечника путем облегченной диффузии с помощью специальных белков-переносчиков; 2 — транспорт глюкозы и галактозы в энтероцит путем Na-зависимого вторично-активного транспорта. Белки-переносчики участвуют во всасывании глюкозы из просвета кишечника в энтероцит против градиента концентрации. Энергию, необходимую для транспорта, обеспечивает Na^+, K^+-АТФаза (3), которая работает, как насос, откачивая из клетки Na^+ в обмен на K^+ и обеспечивает градиент концентрации Na^+; 4 — транспорт моносахаридов из энтероцитов в кровь путем облегченной диффузии

Глюкоза из энтероцитов перемещается во внеклеточную жидкость и далее в кровь с помощью облегченной диффузии. Поступающая из кишечника глюкоза кровью воротной вены транспортируется в печень, где часть ее задерживается, а часть через общий кровоток поступает в клетки других органов и тканей.

2. Поступление глюкозы в клетки из кровотока происходит путем облегченной диффузии при участии специальных белков-переносчиков — ГЛЮТ (глюкозные транспортеры). ГЛЮТ обнаружены во всех тканях. Существует *несколько изоформ ГЛЮТ, которые различаются по локализации и сродству* к глюкозе. ГЛЮТ пронумерованы в порядке их обнаружения (табл. 6.1).

Таблица 6.1. Распределение белков — транспортеров глюкозы (ГЛЮТ)

Тип ГЛЮТ	Локализация в органах
ГЛЮТ-1	Преимущественно в плаценте, мозге, почках, толстой кишке, меньше в жировой ткани, мышцах
ГЛЮТ-2	Преимущественно в печени, β-клетках островков Лангерганса, энтероцитах
ГЛЮТ-3	Во многих тканях, включая мозг, плаценту, почки
ГЛЮТ-4 инсулинозависимый	В мышцах (скелетных, сердечной), жировой ткани (находятся почти полностью в цитоплазме)
ГЛЮТ-5	В тонкой кишке, в меньшей мере в почках, скелетных мышцах, жировой ткани, мозге. Переносчик фруктозы

Все типы ГЛЮТ могут находиться как в плазматической мембране, так и в цитозольных везикулах. В клетках мышц и жировой ткани ГЛЮТ-4 (инсулинозависимые) почти полностью локализуются в цитоплазме. Влияние инсулина на такие клетки приводит к перемещению везикул, содержащих ГЛЮТ-4, к плазматической мембране и их слиянию с ней. После этого возможен облегченный транспорт глюкозы в клетки. При снижении концентрации инсулина в крови белки транспортеры глюкозы снова перемещаются в цитозоль и поступление глюкозы в эти ткани прекращается.

3. В метаболические пути глюкоза и другие моносахариды включаются только в виде фосфорных эфиров. **Фосфорилирование свободных моносахаридов — обязательная реакция на пути их использования в клетках**, она приводит к образованию более реакционноспособных соединений и поэтому может рассматриваться как реакция активации.

Глюкоза, поступающая в клетки органов и тканей, фосфорилируется с использованием АТФ, превращаясь в глюкозо-6-фосфат. Эту реакцию во многих тканях катализирует фермент **гексокиназа**, а в печени и поджелудочной железе — **глюкокиназа**. Фосфорилирование глюкозы — практически **необратимая реакция**. Образование глюкозо-6-фосфата в клетке — это своеобразная «ловушка» для глюкозы, так как мембрана клетки непроницаема для фосфорилированной глюкозы:

$$\text{Глюкоза} + \text{АТФ} \xrightarrow[\text{Гексокиназа}]{\text{Глюкокиназа}} \text{Глюкозо-6-фосфат} + \text{АДФ}.$$

Глюкокиназа имеет высокое значение K_m = 10 ммоль/л и катализирует фосфорилирование глюкозы в гепатоцитах в период пищеварения (абсорбтивный период). В этот период концентрация глюкозы в воротной вене больше, чем в других отделах кровяного русла, и может превышать 10 ммоль/л. В этих условиях максимальная активность глюкокиназы обеспечивает поступление глюкозы в клетки печени и ее фосфорилирование. Глюкокиназа, в отличие от гексокиназы, не ингибируется продуктом реакции — глюкозо-6-фосфатом.

Гексокиназа отличается от глюкокиназы высоким сродством к глюкозе и низким значением K_m <0,1ммоль/л. Следовательно, этот фермент, в отличие от глюкокиназы, активен при концентрации глюкозы в крови, соответствующей физиологической норме, и обеспечивает потребление глюкозы мозгом, эритроцитами и другими тканями между приемами пищи (постабсорбтивный период).

4. В клетках глюкозо-6-фосфат может использоваться в различных процессах, основными из которых является: 1-синтез гликогена (форма депонирования глюкозы), 2-синтез некоторых аминокислот, гетерополисахаридов, пентоз, липидов, 3-катаболизм глюкозы до лактата или до CO_2 и H_2O, который служит основным источником энергии для организма (рис. 6.3)

5. Дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата возможно в печени, почках и клетках эпителия кишечника. В клетках этих органов имеется фермент **глюкозо-6-фосфатаза**, катализирующий отщепление фосфатной группы гидролитическим путем:

$$\text{Глюкозо-6-фосфат} + H_2O \rightarrow \text{Глюкоза} + H_3PO_4.$$

Свободная глюкоза способна поступать из этих органов в кровь.

Рис. 6.3. Метаболизм глюкозы в клетках

ТЕМА 6.3. СИНТЕЗ ГЛИКОГЕНА (ГЛИКОГЕНОГЕНЕЗ), МОБИЛИЗАЦИЯ ГЛИКОГЕНА (ГЛИКОГЕНОЛИЗ). РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ

1. Гликоген — основной резервный полисахарид в клетках животных. Гликоген представляет собой разветвленный гомополисахарид, мономером которого является глюкоза. Остатки глюкозы соединены в линейных участках α1,4-гликозидными связями, а в местах разветвления — связями α1,6. Молекула гликогена более разветвлена, чем молекула крахмала, точки ветвления встречаются через каждые 8—10 остатков глюкозы. Разветвленная структура гликогена обеспечивает большое количество концевых мономеров, что способствует работе ферментов, отщепляющих или присоединяющих мономеры, так как эти ферменты могут одновременно работать на многих ветвях молекулы гликогена.

Гликоген депонируется главным образом в печени и скелетных мышцах и хранится в цитозоле клеток в форме гранул. Гранулы гликогена плохо растворимы в воде и не влияют на осмотическое давление в клетке. Это обстоятельство объясняет, почему в клетке депонируется гликоген, а не свободная глюкоза. С гранулами связаны и некоторые ферменты, участвующие в обмене гликогена, что облегчает взаимодействие ферментов с субстратами.

2. Синтез гликогена. Гликоген синтезируется в период пищеварения (абсорбтивный период: 1–2 часа после приема углеводной пищи) в основном в печени и в мышцах. Этот процесс требует затрат энергии, так включение одного мономера в полисахаридную цепь сопряжено с расходованием АТФ и УТФ (рис. 6.4, реакции 1 и 3). Образованная УДФ-глюкоза (реакция 3) является субстратом для гликогенсинтазы, которая переносит остаток глюкозы (реакция 4) на праймер (олигосахарид из 4–8 остатков глюкозы) и соединяет его α1,4-глюкозной связью. Когда длина синтезируемой цепи увеличивается на 11–12 остатков глюкозы, фермент ветвления – глюкозил-1,4→1,6-трансфераза (реакция 5) образует боковую цепь путем переноса фрагмента из 5–6 остатков глюкозы на внутренний остаток глюкозы, соединяя

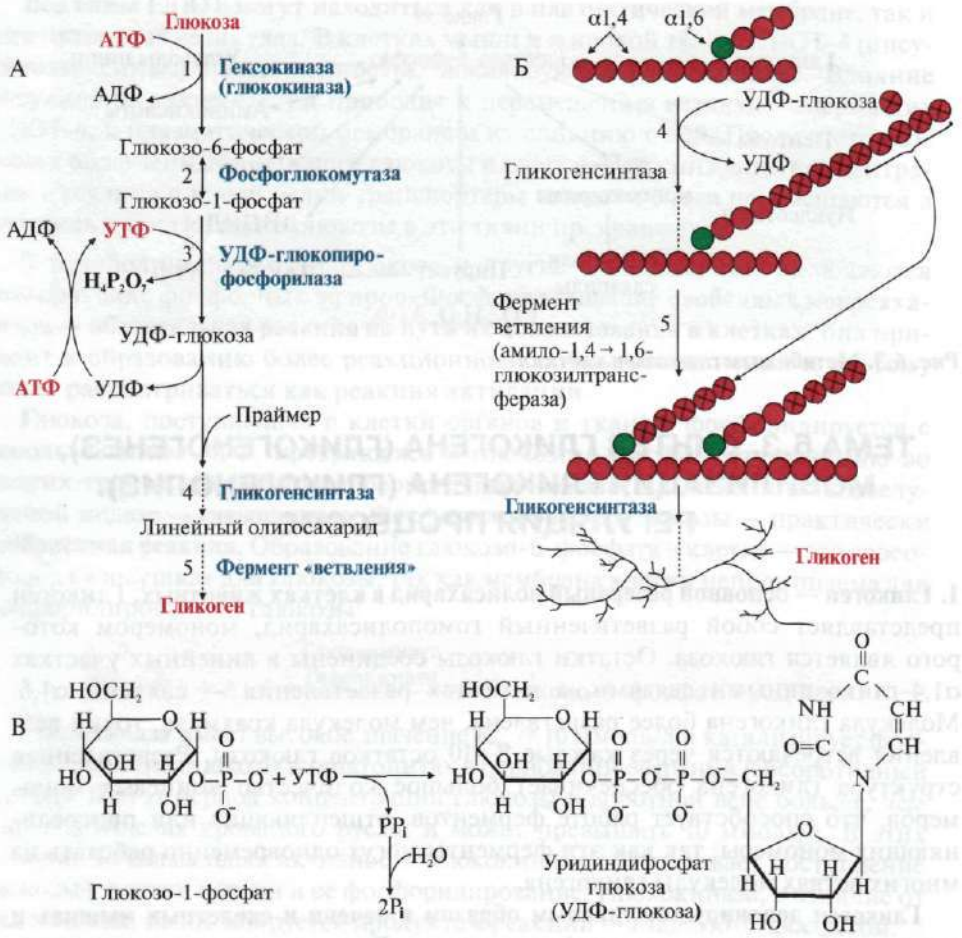


Рис. 6.4. Синтез гликогена:

А — синтез гликогена (общая схема); Б — полимеризация и ветвление молекулы гликогена; В — образование УДФ-глюкозы;

●, ● — глюкозные остатки, ● — глюкозные остатки в точках ветвления.

1 — фосфорилирование глюкозы с использованием энергии АТФ и образованием глюкозо-6-фосфата;

2 — изменение положения фосфатной группы и преобразование глюкозо-6-фосфата в глюкозо-1-фосфат;

3 — образование УДФ глюкозы — субстрата для синтеза гликогена с использованием энергии УТФ;

4 — перенос глюкозного остатка на праймер — «затравку» (цепь из 4—8 остатков глюкозы) с участием гликогенсинтазы, которая удлиняет праймер, соединяя остатки глюкозы α1,4-гликозидными связями;

5 — образование разветвлений в молекуле гликогена. Перенос концевого олигосахарида, состоящего из 5—6 остатков, на внутренний остаток глюкозы этой или другой цепи, образуя точку ветвления, где концевой остаток глюкозы соединяется с олигосахаридом α1,6-гликозидной связью

его α1,6-гликозидной связью. Затем удлинение цепей и ветвление их повторяется много раз. В итоге образуется сильно разветвленная молекула, содержащая до 1млн глюкозных остатков.

3. Мобилизация (распад) гликогена происходит в интервалах между приемами пищи (постабсорбтивный период) и ускоряется во время физической работы. Этот процесс осуществляется путем последовательного отщепления остатков глюкозы, в виде глюкозо-1-фосфата (рис. 6.5, реакция 1) с помощью гликоген-фосфорилазы, расщепляющей α1,4-гликозидные связи. Этот фермент не расщепляет α1,6-гликозидные связи в местах разветвлений, поэтому необходимы еще два фермента, после действия которых остаток глюкозы в точке ветвления освобождается в форме свободной глюкозы (рис. 6.5, реакции 2 и 3). Гликоген распадается до глюкозо-6-фосфата и свободной глюкозы без затрат АТФ.

Мобилизация гликогена в печени отличается от таковой в мышцах одной реакцией (реакция 5), обусловленной наличием в печени фермента глюкозо-6-фосфатазы.

Присутствие в печени глюкозо-6-фосфатазы обеспечивает главную функцию гликогена печени — высвобождение глюкозы в кровь в интервалах между едой для использования ее другими органами. Таким образом, мобилизация гликогена печени обеспечивает поддержание глюкозы в крови на постоянном уровне 3,3–5,5 ммоль в постабсорбтивном периоде. Это обстоятельство является обязательным условием для работы других органов и особенно мозга. Через 10—18 часов после приема пищи запасы гликогена в печени значительно истощаются, а голодание в течение 24 часов приводит к полному его исчерпанию.

Функция мышечного гликогена заключается в обеспечении клеток глюкозо-6-фосфатом, используемым в самой мышце для окисления и получения энергии или других целей (табл. 6.2).

Таблица 6.2. Особенности мобилизации гликогена в печени и в мышцах

	Печень	Мышцы
Схема процесса	Гликоген ↓ Глюкозо-1-фосфат ↓ Глюкозо-6-фосфат Глюкозо-6-фосфатаза ↓ → H_3PO_4 Глюкоза ↓ В кровь	Гликоген ↓ Глюкозо-1-фосфат ↓ Глюкозо-6-фосфат ↓ Катаболизм ↓ ↓ CO_2, H_2O Лактат
Особенности процессов	Глюкозо-6-фосфатаза катализирует дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата. Свободная глюкоза поступает в кровь	Глюкозо-6-фосфатаза отсутствует, а фосфорилированная глюкоза не может пройти через мембрану и используется только в самих клетках мышц
Физиологическое значение	Гликоген используется для поддержания концентрации глюкозы в крови и снабжения глюкозой других органов в период между едой	Гликоген используется для энергообеспечения только самих мышц

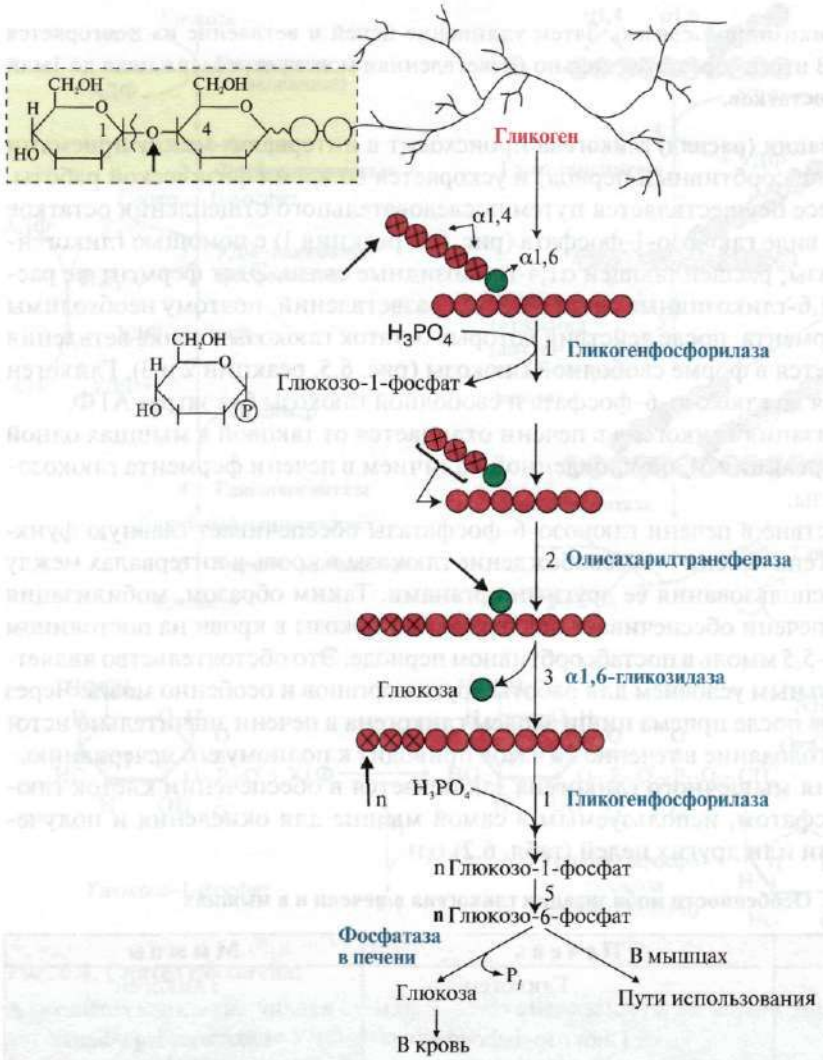


Рис. 6.5. Мобилизация гликогена:

В рамке концевой фрагмент гликогена с точкой действия гликогенфосфорилазы:
● — глюкозный остаток, связанный α1,6-гликозидной связью;
●, ⊗ — глюкозные остатки в линейных участках и боковых ветвях, связанные α1,4-гликозидной связью;
1 — реакция фосфоролиза — отщепление глюкозного остатка в форме глюкозо-1-фосфата. В реакции используется неорганический фосфат;
2 — перенос трех мономеров, оставшихся неотщепленными до точки ветвления, на нередуцирующий конец цепи и удлинение этой цепи;
3 — отщепление глюкозного остатка в точке ветвления (гидролиз α1,6-гликозидной связи) и образование свободной глюкозы;
4 — повторяющееся действие гликогенфосфорилазы и других ферментов с образованием основного продукта — глюкозо-1-фосфата;
5 — образование глюкозо-6-фосфата и использование его в печени и мышцах

4. Переключение процессов синтеза и мобилизации гликогена в печени и мышцах происходит при переходе из абсорбтивного состояния в постабсорбтивное и из состояния покоя в режим физической работы. В переключении этих метаболических путей в печени участвуют **инсулин, глюкагон** и **адреналин**, а в мышцах — **инсулин** и **адреналин**.

Влияние этих гормонов на синтез и распад гликогена осуществляется путем изменения в противоположном направлении активности двух ключевых ферментов: **гликогенсинтазы** и **гликогенфосфорилазы** с помощью их фосфорилирования и дефосфорилирования (рис. 6.6).

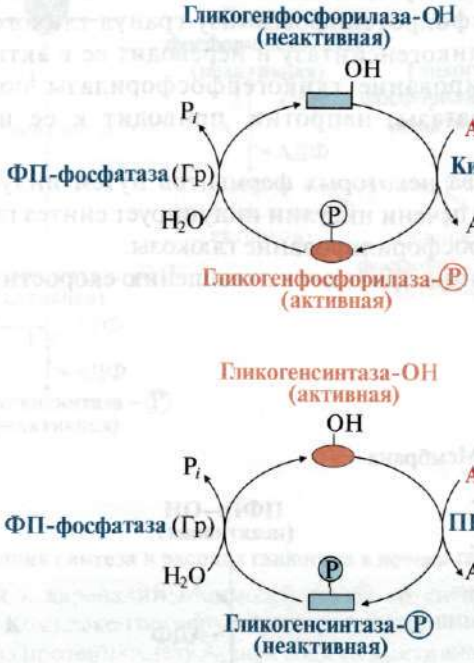


Рис. 6.6. Изменение активности гликогенфосфорилазы и гликогенсинтазы:

Фермент —OH — нефосфорилированная форма; фермент — Ⓟ — фосфорилированная форма; ФП-фосфатаза (Гр) — фосфопротеинфосфатаза гранул гликогена

Первичным сигналом для синтеза инсулина и глюкагона является изменение концентрации глюкозы в крови. Инсулин и глюкагон постоянно присутствуют в крови, но при переходе из абсорбтивного периода в постабсорбтивный изменяется их относительная концентрация. Отношение концентраций инсулина и глюкагона в крови называют **инсулин-глюкагоновым индексом, в зависимости от которого изменяется направление метаболизма гликогена в печени**.

5. Регуляция метаболизма гликогена в печени.

В период пищеварения концентрация глюкозы в крови повышается до 10—12 ммоль/л, и это является сигналом для синтеза и секреции инсулина. Концентрация инсулина увеличивается, и его влияние является преобладающим. Инсулин-глюкагоновый индекс в этом случае повышается. Под влиянием инсулина происходит:

- ускорение транспорта глюкозы в клетки инсулинзависимых мышечной и жировой тканей (см. модуль 4);
- изменение активности ферментов путем фосфорилирования и дефосфорилирования. Так, например, инсулин активирует фосфодиэстеразу и снижает концентрацию цАМФ в клетке. Кроме этого, инсулин активирует фосфопротеинфосфатазу гранул гликогена, которая дефосфорилирует гликогенсинтазу и переводит ее в активное состояние. Дефосфорилирование гликогенфосфорилазы под влиянием фосфопротеинфосфатазы, напротив, приводит к ее инактивации (рис. 6.7);
- изменение количества некоторых ферментов путем индукции и репрессии их синтеза. В печени инсулин индуцирует синтез глюкокиназы, ускоряя тем самым фосфорилирование глюкозы.

Все эти свойства инсулина приводят к повышению скорости синтеза гликогена.

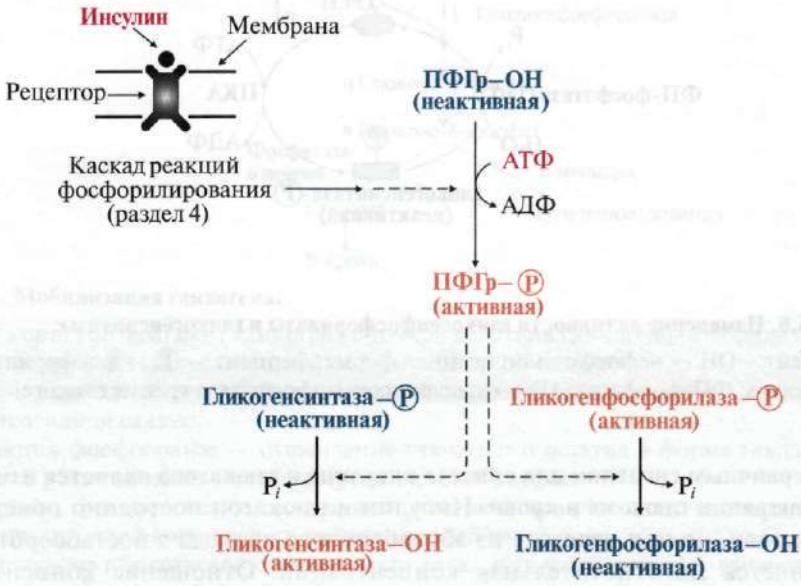


Рис. 6.7. Влияние инсулина на активность гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы:
ФП-фосфатаза (Гр) — фосфопротеинфосфатаза гранул гликогена

В **постабсорбтивном периоде** инсулин-глюкагоновый индекс снижается и решающим является влияние **глюкагона**, который синтезируется в ответ на снижение концентрации глюкозы в крови и стимулирует распад гликогена в печени. Механизм действия глюкагона заключается в том, что он «запускает» аденилатциклазный каскад реакций, приводящий к активации гликогенфосфорилазы и ингибированию гликогенсинтазы (рис. 6.8).

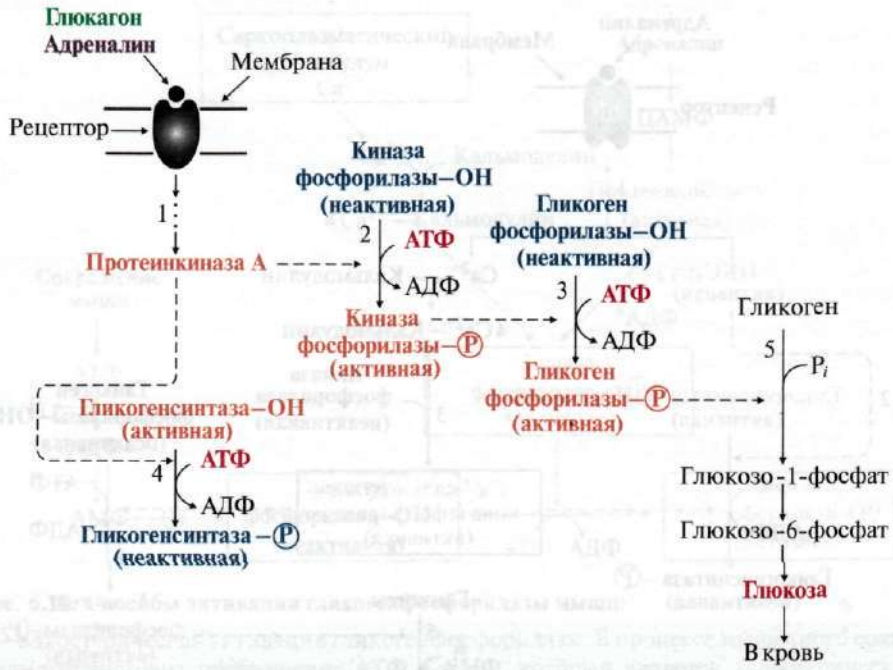


Рис. 6.8. Регуляция синтеза и распада гликогена в печени глюкагоном и адреналином:

1 — глюкагон и адреналин взаимодействуют со специфическими мембранными рецепторами. Комплекс гормон—рецептор передает сигнал через аденилатциклазную систему на протеинкиназу А, переводя ее в активное состояние;

2 — протеинкиназа А фосфорилирует и активирует киназу фосфорилазы;

3 — киназа фосфорилазы фосфорилирует гликогенфосфорилазу, переводя ее в активную форму;

4. — протеинкиназа А фосфорилирует также гликогенсинтазу, переводя ее в неактивное состояние;

5 — в результате ингибирования гликогенсинтазы и активации гликогенфосфорилазы ускоряется распад гликогена

Адреналин имеет сходный с глюкагоном механизм действия на клетки печени (см. рис. 6.8). Но возможно включение и другой эффекторной системы передачи сигнала в клетку печени. Какая система передачи сигнала в клетку будет использована, зависит от типа рецепторов, с которыми взаимодействует адреналин. Так, присоединение адреналина к β_2-рецепторам клеток печени приводит в действие аденилатциклазную

систему. Взаимодействие же адреналина с α_1-рецепторами «включает» инозитолфосфатный механизм трансмембранной передачи гормонального сигнала (рис. 6.9). Результатом действия обеих систем является фосфорилирование ключевых ферментов, изменение их активности и переключение синтеза гликогена на его распад.

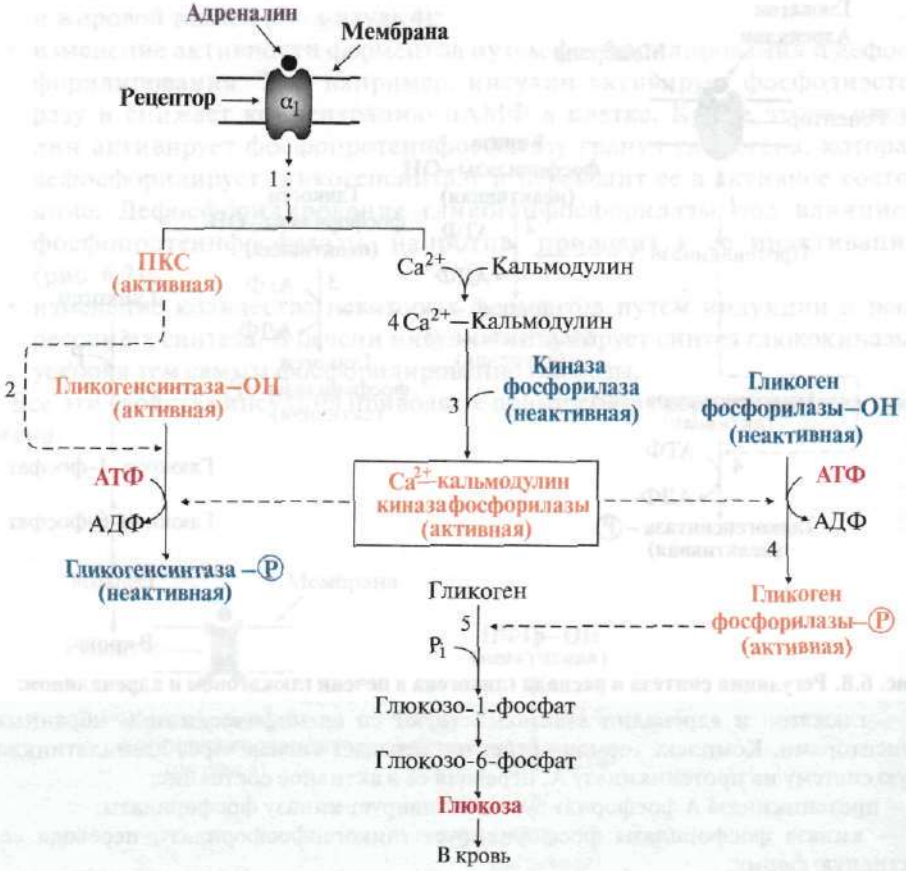


Рис. 6.9. Инозитолфосфатный механизм регуляции синтеза и распада гликогена в печени адреналином и Ca^{2+}:

1 — взаимодействие адреналина с α_1-рецептором передает сигнал через инозитолфосфатную систему. Это сопровождается активацией фосфолипазы С, мобилизацией Ca^{2+} из ЭР и активацией протеинкиназы С (ПКС).

2 — протеинкиназа С фосфорилирует гликогенсинтазу и переводит ее в неактивное состояние.

3 — комплекс $4Ca^{2+}$—кальмодулин активирует киназу фосфорилазы и кальмодулин-зависимые протеинкиназы.

4 — киназа фосфорилазы фосфорилирует гликогенфосфорилазу и тем самым ее активирует.

5 — гликогенфосфорилаза катализирует первую реакцию распада гликогена

6. Регуляция метаболизма гликогена в мышцах. Активация адреналином мышечной гликогенфосфорилазы происходит несколько иначе, так как распад гликогена в скелетных мышцах стимулируется мышечными сокращениями (рис. 6.10).

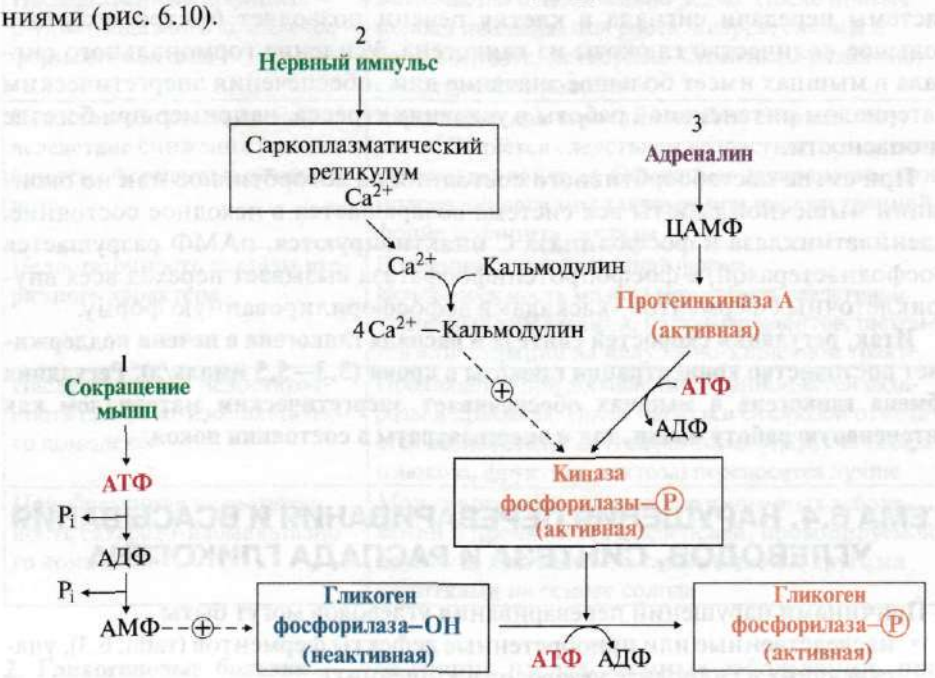


Рис. 6.10. Способы активации гликогенфосфорилазы мышц:

1 — аллостерическая активация гликогенфосфорилазы. В процессе мышечного сокращения происходит превращение АТФ в АМФ, который является аллостерическим активатором дефосфорилированной и малоактивной формы гликогенфосфорилазы;
2 — нервный импульс инициирует высвобождение из саркоплазматического ретикулума ионы Ca^{2+}, образующие комплекс с кальмодулином, способный активировать киназу фосфорилазы, которая в свою очередь фосфорилирует и активирует гликогенфосфорилазу;
3 — активация гликогенфосфорилазы адреналином посредством аденилатциклазной системы

При интенсивной мышечной работе киназа фосфорилазы (Ca^{2+}-зависимая) активируется под влиянием нервного импульса, так как в саркоплазме в этом случае возрастает концентрация ионов кальция. Результатом действия адреналина в мышцах также является активация цАМФ зависимой протеинкиназы (ПКА) и активация гликогенфосфорилазы путем ее фосфорилирования (рис. 6.10, пути 2 и 3).

При умеренной физической нагрузке и в состоянии покоя, когда уровень цАМФ в клетке низкий и гликогенфосфорилаза находится в дефосфорилированном состоянии, в мышцах действует другой механизм активации гликогенфосфорилазы — аллостерический. Активатором фермента служит АМФ, образующаяся при распаде АТФ (рис. 6.10, путь 1).

7. Значение регуляции обмена гликогена. При передаче гормонального сигнала через внутриклеточные посредники происходит значительное его усиление, поэтому активация фосфорилазы гликогена при участии любой системы передачи сигнала в клетку печени позволяет быстро получить большое количество глюкозы из гликогена. Усиление гормонального сигнала в мышцах имеет большое значение для обеспечения энергетическим материалом интенсивной работы в условиях стресса, например при бегстве от опасности.

При смене постабсорбтивного состояния на абсорбтивное или по окончании мышечной работы вся система возвращается в исходное состояние. Аденилатциклаза и фосфолипаза С инактивируются, цАМФ разрушается фосфодиэстеразой, а фосфопротеинфосфатаза вызывает переход всех внутриклеточных ферментов «каскада» в дефосфорилированную форму.

Итак, регуляция скоростей синтеза и распада гликогена в печени поддерживает постоянство концентрации глюкозы в крови (3,3—5,5 ммоль/л). Регуляция обмена гликогена в мышцах обеспечивает энергетическим материалом как интенсивную работу мышц, так и энергозатраты в состоянии покоя.

ТЕМА 6.4. НАРУШЕНИЯ ПЕРЕВАРИВАНИЯ И ВСАСЫВАНИЯ УГЛЕВОДОВ, СИНТЕЗА И РАСПАДА ГЛИКОГЕНА

1. Причинами нарушений переваривания углеводов могут быть:
   - наследственные или приобретенные дефекты ферментов (табл. 6.3), участвующих в гидролизе углеводов в кишечнике;
   - нарушение системы транспорта моносахаридов через мембраны клеток кишечника.

И в том и в другом случае возникает осмотическая диарея. Кроме того, нерасщепленные углеводы подвергаются действию ферментов микроорганизмов кишечника с образованием газов, что сопровождается спазмами и болями в кишечнике.

Для диагностики нарушений переваривания используют пробы с нагрузкой определенными углеводами (2 г углевода на 1 кг массы). После нагрузки в норме уровень глюкозы в крови увеличивается примерно на 50 мг в 1 дл по сравнению с исходным. При патологии подъем гликемической кривой незначителен.

Если тест при нагрузке моносахаридом сопровождается адекватным повышением его концентрации в крови, а нагрузка дисахаридом не дает нормальной реакции, то это указывает на недостаточность кишечной дисахаридазы, а не системы транспорта моносахаридов.

Таблица 6.3. Нарушения переваривания дисахаридов

Причина заболевания	Клинические проявления и лабораторные данные
Наследственный дефицит β-гликозидазного комплекса – фермента лактазы	Встречается относительно редко. После приема молока наблюдаются рвота, диарея, спазмы и боли в животе, метеоризм. Симптомы развиваются сразу после рождения
Недостаточность лактазы вследствие снижения экспрессии гена фермента в онтогенезе	Характерна для взрослых и детей старшего возраста. Является следствием возрастного снижения количества лактазы. Симптомы непереносимости молока аналогичны таковым при наследственной форме дефицита лактазы
Недостаточность лактазы вторичного характера	Временная, приобретенная форма. Непереносимость молока может быть следствием кишечных заболеваний, например колитов, гастритов или операций на желудочно-кишечном тракте
Наследственная недостаточность сахаразо-изомальтазного комплекса	Проявляется при добавлении в рацион детей сахарозы и крахмала. После нагрузки сахарозой отмечается незначительная гипергликемия. Другие сахара (глюкоза, фруктоза, лактоза) переносятся лучше
Приобретенная недостаточность сахаразо-изомальтазного комплекса	Может возникать вследствие кишечных заболеваний и проявляется диспепсией, провоцируемой крупами, крахмалом, а также пивом и другими напитками на основе солода

2. **Гликогеновые болезни** — это группа наследственных заболеваний, причинами которых являются дефекты ферментов, участвующих в синтезе или распаде гликогена, а также в регуляции этих процессов (табл. 6.4).

- **Гликогенозы** (болезни накопления гликогена) обусловлены дефектом ферментов, участвующих в распаде гликогена. Гликогеноз проявляется избыточным накоплением гликогена в печени, сердечной и скелетных мышцах, почках, легких и других органах. Накапливаемый гликоген может иметь как нормальную структуру, так и измененную. Результатом нарушения распада гликогена является **гипоглюкоземия** (снижение содержания глюкозы в крови). Гликогенозы различаются характером и локализацией дефектного фермента.
- **Агликогенозы** являются следствием нарушения синтеза гликогена и сопровождаются снижением его содержания в тканях. Результатом также является гипоглюкоземия.

Таблица 6.4. Гликогеновые болезни и их причины

Фермент	Локализация дефектного фермента	Основные проявления болезней	Название болезни
1. Глюкозо-6-фосфатаза	Печень, почки	Накопление гликогена нормальной структуры. Гипоглюкоземия, гиперурикемия, ацидоз (накопление лактата)	Болезнь Гирке
2. Амило-1,6-глюкозидаза (расщепляет связи в местах ветвления)	Мышцы, печень	Накопление гликогена с короткими внешними ветвями	Болезнь Кори
3. Амило-1,6-глюкозилтрансфераза	Печень, селезенка	Накопление гликогена с длинными наружными ветвями и редкими точками ветвления	Болезнь Андерсена
4. Гликогенфосфорилаза	Мышцы	Накопление в мышцах гликогена нормальной структуры	Болезнь Мак-Ардля
5. Гликогенфосфорилаза	Печень	Накопление в мышцах гликогена нормальной структуры	Болезнь Херса
6. цАМф-зависимая протеинкиназа	Печень	Аналогичны болезни Херса	–
7. Киназа гликогенфосфорилазы	Печень	Аналогичны болезни Херса	–
8. Гликогенсинтаза	Печень	Низкое содержание гликогена в печени, гипоглюкоземия	–

Количественные характеристики обмена углеводов, изучаемые в данной модульной единице:

концентрация глюкозы в крови: 3,3–5,5 мМоль/л, 80–100 мг/дл

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Заполните табл. 6.5, используя данные рис. 6.1.

Таблица 6.5. Переваривание углеводов

Название фермента, место его синтеза	Место действия фермента (отдел желудочно-кишечного тракта)	Химическая реакция, катализируемая ферментом	Гидролизуемая связь

2. Ответьте письменно на вопросы:

а) почему углеводы не перевариваются в желудке?

б) почему в результате действия α-амилазы на крахмал образуются два разных дисахарида?

в) какой моносахарид образуется в наибольших количествах при переваривании пищевых углеводов?

3. Укажите значение в норме:
- pH слюны,
- pH сока поджелудочной железы,
- концентрацию глюкозы в крови при полноценном рационе питания.

4. Впишите в табл. 6.6 способ транспорта глюкозы по разным маршрутам.

Таблица 6.6. Пути транспорта глюкозы

Маршрут глюкозы	Способ транспорта
Просвет кишечника → клетки слизистой	
Клетки кишечника → кровь	
Кровь → клетки тканей	

5. Напишите ответы на вопросы:
а) почему в организме человека и животных резервную функцию выполняет гликоген, а не крахмал и клетчатка, также построенные из глюкозных остатков?
б) почему анализ крови на определение содержания глюкозы у пациентов берут натощак, а не после приема пищи?
в) в течение какого времени истощается запас гликогена в печени при полном голодании в состоянии покоя?

6. Впишите в табл. 6.7 лиганды (эффекторы), взаимодействие с которыми изменяет активность ферментов, участвующих в трансмембранной передаче гормонального сигнала в клетки печени.

Таблица 6.7. Изменение активности ферментов в результате взаимодействия с лигандами (эффекторами)

Фермент	Лиганд (эффектор)	Изменение активности ↑ (повышение) ↓(— снижение)
Аденилатциклаза		
Протеинкиназа А		
Фосфолипаза С		
Протеинкиназа С		
Киназа фосфорилазы		
Гликогенфосфорилаза		

7. Впишите в табл. 6.8, пользуясь значками ↓ (уменьшение) и ↑ (увеличение), как изменяется содержание в крови гормонов и регуляторных метаболитов, а также скорость синтеза и распада гликогена в печени.

Таблица 6.8. Регуляция обмена гликогена в печени

Состояние	Изменение содержания (↑↓)		Изменение скорости процессов в печени (↑↓)	
Постабсорбтивное	В крови: глюкагон		Синтез гликогена	
	инсулин		Распад гликогена	
Абсорбтивное (после приема углеводсодержащей пищи)	В крови: глюкагон			
	инсулин			
	глюкоза			
	В печени: цАМФ		Синтез гликогена	
	глюкозо-6-фосфат		Распад гликогена	
Стресс	В крови: адреналин			
	В печени: цАМФ		Синтез гликогена	
	Ca^{2+}-кальмодулин		Распад гликогена	

8. Выберите правильный ответ.

В постабсорбтивном периоде повышается:

А. Инсулин-глюкагоновый индекс в крови

Б. Перемещение белков-транспортеров из цитозоля в плазматическую мембрану в мышцах

В. Фосфорилирование гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы в печени и мышцах

Г. Разрушение цАМФ фосфодиэстеразой

Д. Содержание гликогена в печени

9. Выберите правильные ответы.

В абсорбтивном периоде в состоянии покоя снижается:

А. Инсулин-глюкагоновый индекс в крови

Б. Концентрация цАМФ в клетках печени и мышц

В. Активность ПКС в печени

Г. Фосфорилирование гликогенсинтазы в мышцах и печени

Д. Мобилизация Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума в мышцах

10. Впишите в табл. 6.9 названия ферментов, дефект в которых ведет к накоплению гликогена.

Таблица 6.9. Накопление гликогена и изменения его структуры при дефекте некоторых ферментов

Изменение структуры гликогена при гликогенозе	Дефектные ферменты
1. Накопление гликогена в скелетных мышцах с короткими внешними ветвями	
2. Накопление гликогена в печени с очень длинными наружными и редкими точками ветвления	
3. Накопление гликогена в печени нормальной структуры	

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Установите соответствие.

Субстрат:

А. Лактоза в ротовой полости
Б. Мальтоза в кишечнике
В. Сахароза в желудке
Г. Крахмал и декстрины в кишечнике
Д. Лактоза в кишечнике

Фермент:

1. Панкреатическая α-амилаза
2. Сахаразо-изомальтазный комплекс
3. β-гликозидазный комплекс

2. Выполните «цепное» задание.

Человек съел во время обеда 200 г хлеба:

а) в результате действия панкреатической α-амилазы образуется дисахарид:

А. Глюкоза (α1,2) Глюкоза
Б. Глюкоза (α1,4) Глюкоза
В. Галактоза (β1,4) Глюкоза
Г. Глюкоза (β1,4) Глюкоза
Д. Глюкоза (α1,2) Фруктоза

б) полученное вещество в тонком кишечнике подвергается действию:

А. Глюкокиназы
Б. Фосфоглюкоизомеразы
В. β-Гликозидазного комплекса
Г. Гексокиназы
Д. Сахаразо-изомальтазного комплекса

в) продуктом реакции, которую катализирует выбранный фермент, является:

А. D-глюкоза
Б. L-фруктоза
В. L-глюкоза
Г. D-манноза
Д. D-галактоза

г) этот вещество всасывается в клетки слизистой оболочки кишечника путем:

А. Простотой диффузии
Б. Пассивного симпорта
В. Транспорта, зависимого от инсулина
Г. Первично-активного транспорта
Д. Облегченной диффузии

3. Выполните цепное задание:

а) потребление глюкозы клетками тканей из кровотока происходит путем:

А. Простой диффузии
Б. Облегченной диффузии

В. Симпорта
Г. Первично-активного транспорта
Д. Вторично-активного транспорта

б) этот тип транспорта глюкозы в клетки жировой ткани регулирует гормон:
А. Инсулин
Б. Адреналин
В. Вазопрессин
Г. Норадреналин
Д. Глюкагон

в) механизм действия этого гормона включает:
А. Взаимодействие с цитоплазматическим рецептором
Б. Превращение АТФ в цАМФ
В. Активацию протеинкиназы А
Г. Проявление тирозинкиназной активности рецептора
Д. Взаимодействие с кальмодулином

г) результатом этого действия является транслокация из цитозоля в плазматическую мембрану белка-переносчика:
А. ГЛЮТ-2
Б. ГЛЮТ-3
В. ГЛЮТ-5
Г. ГЛЮТ-4
Д. ГЛЮТ-1

д) этот белок-переносчик локализован в жировой ткани, а также в клетках:
А. Мозга
Б. Поджелудочной железы
В. Мышц
Г. Печени
Д. Кишечника

4. Выполните «цепное» задание:

а) у здорового человека в покое через 1 час после еды, содержащей углеводы, в крови повышается концентрация:
А. Глюкозо-6-фосфата
Б. Глюкозы
В. Сахарозы
Г. Лактозы
Д. Мальтозы

б) это вещество в клетках печени вступает в реакцию:
А. Фосфорилирования
Б. Дегидрирования
В. Декарбоксилирования
Г. Изомеризации
Д. Взаимодействия с ГЛЮТ-4

в) эту реакцию в печени катализирует фермент:
А. УДФ-глюкопирофосфорилаза
Б. Глюкозилтрансфераза

В. Глюкокиназа
Г. Фосфоглюкомутаза
Д. Гликогенсинтаза

г) активность этого фермента в печени увеличивается под влиянием гормона:
А. Адреналина
Б. Инсулина
В. Глюкагона
Г. Кортизола
Д. Тироксина

д) действие этого гормона на фермент заключается в:
А. Аллостерической активации
Б. Фосфорилировании и активировании
В. Индукции синтеза
Г. Активации путем отщепления белка-ингибитора
Д. Дефосфорилировании

5. Выполните «цепное» задание:

а) у здорового человека через 4–5 часов в покое после еды увеличивается скорость:
А. Всасывания глюкозы в клетки кишечника
Б. Перемещение ГЛЮТ-4 в мембрану клеток печени
В. Транспорт глюкозы в клетки печени
Г. Распад гликогена в печени
Д. Синтез гликогена в печени и мышцах

б) в ходе этого процесса в печени происходит реакция:
А. Фруктозо-1-фосфат → Фруктозо-6-фосфат
Б. Гликоген → Глюкозо-1-фосфат
В. Глюкозо-6-фосфат → УДФ-глюкоза
Г. Глюкоза → Глюкозо-6-фосфат
Д. Глюкозо-6-фосфат → Глюкозо-1-фосфат

в) эту реакцию катализирует фермент:
А. Гексокиназа
Б. Глюкозо-6-фосфатаза
В. Фосфоглюкомутаза
Г. Гликогенфосфорилаза
Д. Олигосахаридтрансфераза

г) этот фермент активируется под влиянием гормона:
А. Инсулина
Б. Альдостерона
В. Глюкагона
Г. Кортизола
Д. Тироксина

д) механизм действия этого гормона включает (выберите все правильные ответы):
А. Взаимодействие с мембранным рецептором
Б. Внутриклеточный каскад реакций, усиливающий действие гормона

В. Снижение концентрации цАМФ в клетке
Г. Дефосфорилирование регуляторных ферментов
Д. Фосфорилирование регуляторных ферментов

6. Установите соответствие.

Характеристика фермента:

А. Активен в фосфорилированной форме
Б. Катализирует реакцию с участием АТФ
В. Активен в дефосфорилированной форме
Г. Локализован в митохондриях
Д. Катализирует образование свободной глюкозы

Фермент:

1. Глюкокиназа
2. Гликогенсинтаза
3. Гликогенфосфорилаза

7. Выберите правильные ответы.

Распад гликогена в мышцах:

А. Поддерживает постоянную концентрацию глюкозы в крови между приемами пищи
Б. Происходит с использованием энергии АТФ
В. Стимулируется при интенсивной физической работе адреналином и Ca^{2+}
Г. Ускоряется при умеренной физической работе в состоянии покоя аллостерически с помощью АМФ
Д. Нарушается при дефекте глюкозо-6-фосфатазы

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. 1—Г, 2-Б, 3—Д
2. а) Б, б) Д, в) А, г) Д
3. а) Б, б) А, в) Г, г) Г, д) В
4. а) Б, б) А, в) В, г) Б, д) В
5. а) Г, б) Б, в) Г, г) В, д) А, Б, Д
6. 1—Б, 2—В, 3—А
7. В, Г

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Основные углеводы пищи:
   - моносахариды (глюкоза, фруктоза, галактоза)
   - дисахариды (сахароза, лактоза, мальтоза)
   - гомополисахариды (крахмал, гликоген, целлюлоза)
2. Ферменты переваривания углеводов:
   - амилаза
   - ферментативные комплексы (гликоамилазный, сахаразо-изомальтазный, β-гликозидазный)

3. ГЛЮТ (глюкозные транспортеры) — белки переносчики глюкозы
4. Инсулин-глюкагоновый индекс
5. Абсорбтивный период
6. Постабсорбтивный период
7. Глюкогеногенез — синтез гликогена
8. Гликогенолиз — мобилизация (распад) гликогена
9. Гликогеновые болезни:
   - гликогенозы
   - агликогенозы
10. *Осмотическая диарея*
11. Гипоглюкоземия
12. Гиперглюкоземия
13. Концентрация глюкозы в крови в норме: 80—100 мг/дл (3,3—5,5 ммоль/л)

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. В клинику поступил ребенок с диареей, наблюдающейся после кормления молоком. Для установления диагноза провели тест на толерантность к лактозе. Больному натощак дали 50 г лактозы, растворенной в воде. Через 30, 60 и 90 минут в крови определяли концентрацию глюкозы. Результаты показали, что концентрация глюкозы в крови не увеличивалась. Приведите возможные причины полученных результатов, аргументируйте их. Для этого:

а) напишите схему реакций переваривания лактозы в кишечнике, укажите фермент;

б) объясните, почему концентрация глюкозы в крови не увеличивается;

в) укажите, будет ли наблюдаться у данного пациента непереносимость кисломолочных продуктов. Ответ обоснуйте.

2. У годовалого ребенка с нормальным развитием и массой при переводе на смешанное питание появились стойкая диарея, рвота, боли в животе после приема пищи. Исключение из рациона молока не дало положительного результата. При обследовании обнаружили, что после нагрузки сахарозой уровень глюкозы в крови повышался незначительно. Какие дополнительные анализы необходимы для постановки диагноза? Для решения задачи предварительно составьте план ее решения с использованием схем и реакций.

3. У двух пациентов в биохимической лаборатории определяли концентрацию глюкозы в крови. Один пациент сдал кровь на анализ строго натощак, другой — спустя 1 час после приема углеводной пищи. У какого из пациентов получены результаты, которые можно использовать для постановки диагноза? Для ответа на вопрос:

а) укажите концентрацию глюкозы в крови в норме;

б) напишите схемы реакций, протекающие в ЖКТ при переваривании основных углеводов пищи;

в) приведите график изменения содержания глюкозы в крови через 30, 60 и 90 минут после приема углеводной пищи.

4. Сахарный диабет — заболевание, характеризующееся хронической гиперглюкоземией (повышением содержания глюкозы в крови до 250—300 мг/дл после приема углеводной пищи), являющейся следствием недостаточного синтеза или действия инсулина. Одним из подходов к снижению гиперглюкоземии является применение препарата «Глюкобай». Его активное вещество — **акарбоза имеет строение тетрасахарида** и является ингибитором активности α-гликозидаз — ферментов тонкого кишечника, участвующих в переваривании углеводов. Объясните, как изменится образование глюкозы в кишечнике и ее содержание в крови при лечении препаратом, содержащим акарбозу. Для этого:

а) приведите схему переваривания углеводов в кишечнике;

б) перечислите ферменты, которые ингибируются этим препаратом;

в) назовите тип ингибирования активности этих ферментов акарбозой.

5. У больной обнаружен наследственный дефект глюкозо-6-фосфатазы в печени. Как изменится метаболизм гликогена у этой пациентки? Будет ли происходить в данном случае: синтез гликогена в печени после еды, мобилизация гликогена и выход глюкозы в кровь в постабсорбтивном периоде?

Для ответа на вопросы:

а) напишите схему мобилизации гликогена, укажите ферменты, отметьте дефектный фермент;

б) укажите, чем отличается этот процесс в печени от процесса в мышцах.

6. Во время экзамена у студента содержание глюкозы в крови оказалось равным 7 ммоль/л.

Объясните причину наблюдаемого изменения содержания глюкозы в крови, если студент позавтракал за 4 часа до экзамена. Для ответа:

а) укажите концентрацию глюкозы в крови в норме;

б) назовите гормон, концентрация которого повышается в крови студента в данной ситуации;

в) напишите схему процесса, который активируется в печени этим гормоном и укажите регуляторный фермент;

г) опишите механизм действия гормона на регуляторный фермент и систему трансмембранной передачи гормонального сигнала.

7. Человек совершает срочную физическую работу (например, убегает от опасности) через 30 минут после обеда, состоящего преимущественно из углеводов. Объясните, почему в этой ситуации в скелетных мышцах останавливается синтез гликогена и стимулируется его распад? Для ответа на вопрос задачи:

а) напишите схему синтеза гликогена. Укажите реакции, связанные с затратой энергии при включении одной молекулы глюкозы в гранулу гликогена;

б) напишите схему мобилизации гликогена и укажите количество АТФ, которое может синтезироваться при дальнейшем окислении в мышцах глюкозо-1-фосфата до CO_2 и H_2O;

в) укажите, содержание какого гормона повышается в крови в ситуации стресса и как этот гормон влияет на активность регуляторных ферментов синтеза и распада гликогена.

8. Алкалоид кофеин, содержащийся в кофе, вызывает гиперглюкоземию и оказывает возбуждающее действие, хотя не влияет на адреналиновые рецепторы. Известно, что кофеин угнетает действие фермента фосфодиэстеразы. Объясните, почему кофеин вызывает гиперглюкоземию? Для решения задачи предварительно составьте план ее решения. Ответ обоснуйте соответствующими схемами.

Модульная единица 2
КАТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ ПРЕВРАЩЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ

Цели изучения

Уметь:

1. Оценивать значение аэробного и анаэробного катаболизма глюкозы в разных физиологических состояниях организма.
2. Объяснять особенности катаболизма глюкозы в разных тканях, причины и последствия нарушения этого процесса.
3. Оценивать значение пентозофосфатного пути превращения глюкозы. Объяснять причины и последствия нарушений этого процесса для быстропролиферирующих тканей, эритроцитов, тканей с активно протекающими восстановительными реакциями.

Знать:

1. Основные этапы и последовательность реакций аэробного и анаэробного катаболизма глюкозы.
2. Энергетический эффект аэробного и анаэробного катаболизма глюкозы, способы синтеза АТФ, механизмы регуляции процесса.
3. Окислительный и неокислительный этапы пентозофосфатного пути превращения глюкозы.

ТЕМА 6.5. КАТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ: АЭРОБНЫЙ И АНАЭРОБНЫЙ ГЛИКОЛИЗ. АЭРОБНЫЙ РАСПАД ГЛЮКОЗЫ ДО CO_2 И H_2O

1. Гликолиз — специфический путь катаболизма глюкозы, в результате которого происходит расщепление глюкозы с образованием двух молекул пирувата — **аэробный гликолиз** (рис. 6.11, реакции 1—10,) или две молекулы лактата — **анаэробный гликолиз** (рис. 6.11, реакции 1—11).

Аэробный и анаэробный гликолиз начинается с реакции фосфорилирования глюкозы (рис. 6.11, реакция 1) и образования глюкозо-6-фосфата, который является своеобразной ловушкой для глюкозы, так как мембрана клетки непроницаема для фосфорилированной глюкозы (нет соответствующих транспортных белков). Все промежуточные соединения гликолиза также находятся в фосфорилированной форме; источником фосфатных групп в реакциях фосфорилирования являются АТФ и H_3PO_4.

Все этапы гликолитического пути окисления глюкозы происходят в цитозоле. Большинство реакций гликолиза, за исключением трех (реакции 1, 3, 10), обратимы.

2. В аэробном и анаэробном гликолизе можно выделить два этапа.

А. Превращение глюкозы в две молекулы глицеральдегид-3-фосфата (рис. 6.11, реакции 1—5). Эта серия реакции протекает с потреблением АТФ.

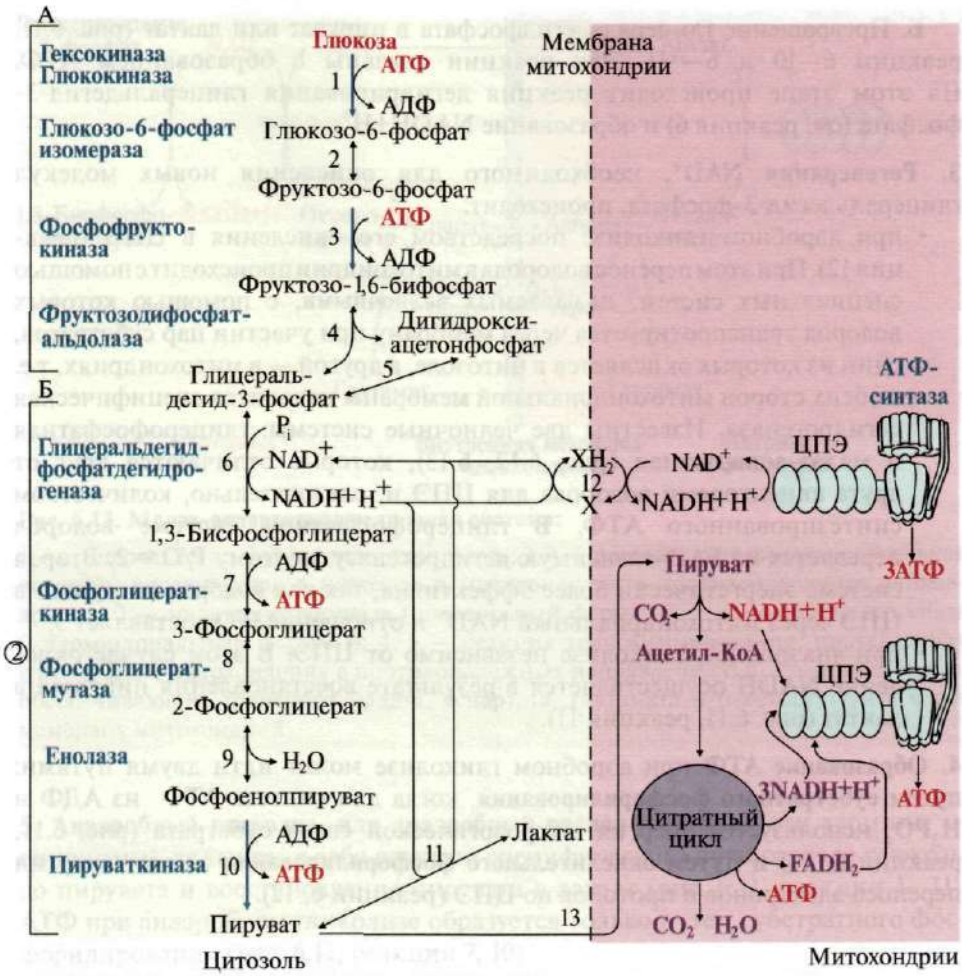


Рис. 6.11. Аэробный и анаэробный распад глюкозы:

1—10 — реакции аэробного гликолиза; 1—11 — реакции анаэробного гликолиза; 12 — челночный механизм транспорта водорода в митохондрии (малат-аспартатный или глицерофосфатный) X, XH_2 — переносчики водорода из цитозоля в митохондрии; ② — стехиометрический коэффициент. Этап А (реакции 1—5) — молекула глюкозы превращается в две молекулы триозы: глицеральдегид-3-фосфат и дигидроксиацетонфосфат, который изомеризуется в глицеральдегид-3-фосфат. В результате образуется две молекулы глицеральдегид-3-фосфата и дальнейший процесс удваивается. На этом этапе происходят две реакции фосфорилирования с затратой двух молекул АТФ (реакции 1 и 3). Этап Б (реакции 6—10) обеспечивает синтез АТФ. Реакция 6 — дегидрирование двух молекул глицеральдегид-3-фосфата, катализируемая NAD-зависимой дегидрогеназой. Регенерация NAD^+ из образующейся $NADH + H^+$ происходит в аэробном гликолизе с участием ЦПЭ и челночных механизмов транспорта водорода из цитозоля в митохондрии (реакция 12). В этой реакции синтезируется АТФ путем окислительного фосфорилирования АДФ. Реакции 7 и 10 — субстратное фосфорилирование АДФ; протекают как в аэробном, так и в анаэробном гликолизе. Реакция 11 — регенерация NAD в анаэробном гликолизе. Акцептором водорода является пируват, который превращается в лактат. Реакция 13 — перенос пирувата в митохондрии и окисление его до конечных продуктов в общем пути катаболизма

Б. Превращение глицеральдегидфосфата в пируват или лактат (рис. 6.11, реакции 6—10 и 6—11). Эти реакции связаны с образованием АТФ. На этом этапе происходит реакция дегидрирования глицеральдегид-3-фосфата (см. реакция 6) и образование $NADH+H^+$.

3. Регенерация NAD^+, необходимого для окисления новых молекул глицеральдегид-3-фосфата, происходит:

- при аэробном гликолизе посредством его окисления в ЦПЭ (реакция 12). При этом перенос водорода в митохондрии происходит с помощью специальных систем, называемых **челночными**, с помощью которых водород транспортируется через мембрану при участии пар субстратов, один из которых окисляется в цитозоле, а другой — в митохондриях, т.е. с обеих сторон митохондриальной мембраны находится специфическая дегидрогеназа. Известны две челночные системы: глицерофосфатная и малат-аспартатная (рис. 6.12, 6.13), которые отличаются друг от друга акцепторами водорода для ЦПЭ и, следовательно, количеством синтезированного АТФ. В глицерофосфатной системе водород передается на FAD-зависимую дегидрогеназу, поэтому P/O = 2. Вторая система энергетически более эффективна, так как водород поступает в ЦПЭ через митохондриальный NAD^+ и отношение P/O составляет 3;
- при анаэробном гликолизе независимо от ЦПЭ. В этом случае окисление NADH осуществляется в результате восстановления пирувата в лактат (рис. 6.11, реакция 11).

4. Образование АТФ при аэробном гликолизе может идти двумя путями: путем **субстратного фосфорилирования**, когда для синтеза АТФ из АДФ и H_3PO_4 используется энергия макроэргической связи субстрата (рис. 6.11, реакции 6, 10) и путем **окислительного фосфорилирования** за счет энергии переноса электронов и протонов по ЦПЭ (реакции 6, 12).

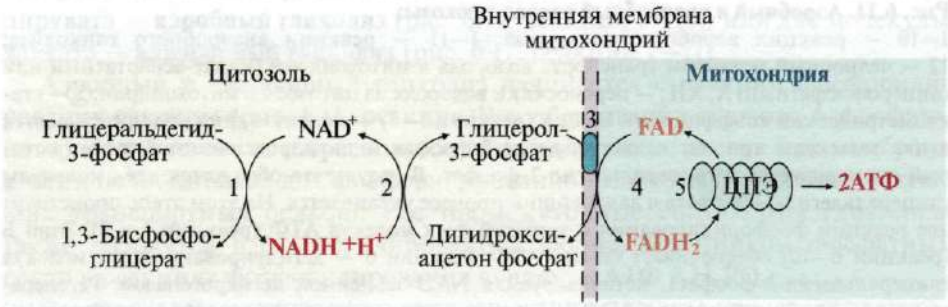


Рис. 6.12. Глицерофосфатная челночная систем:

1 — глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; 2 — глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (цитозольный фермент); 3 — транслоказа, обеспечивающая транспорт глицерол-3-фосфата из цитозоля во внутреннюю мембрану митохондрии; 4 — глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (митохондриальный фермент); 5 — окисление $FADH_2$ в ЦПЭ

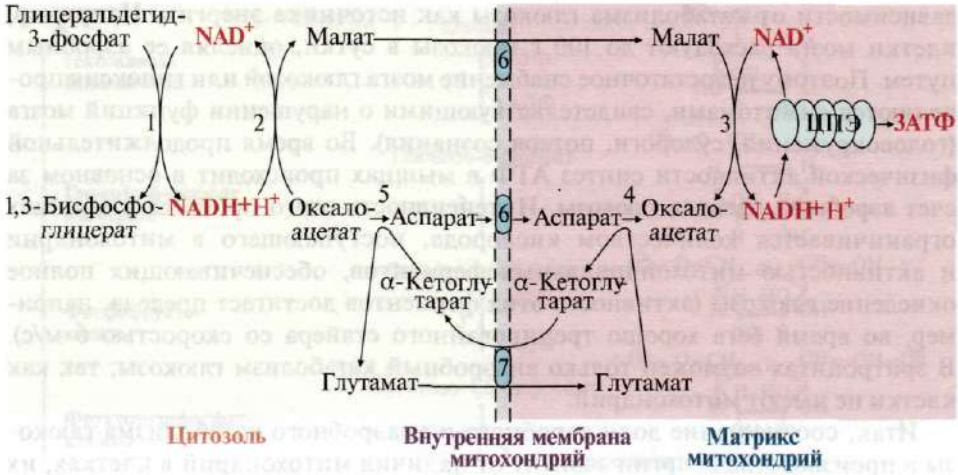


Рис. 6.13. Малат-аспартатная челночная система:

1 — глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; 2, 3 — окислительно-восстановительная реакция, протекающая в цитозоле и митохондриях в противоположных направлениях; 2 — малатдегидрогеназа (цитозольный фермент); 3 — малатдегидрогеназа (митохондриальный фермент); 4, 5 — реакция трансаминирования, протекающая в цитозоле и митохондриях в противоположных направлениях; 6, 7 — транслоказа, обеспечивающие транспорт малата, аспартата, глутамата и α-кетоглутарата через мембрану митохондрий

5. Анаэробный гликолиз, или анаэробный распад глюкозы, (эти термины — синонимы) включает в себя реакции специфического пути распада глюкозы до пирувата и восстановление пирувата в лактат (рис. 6.11, реакции 1—11). АТФ при анаэробном гликолизе образуется только путем субстратного фосфорилирования (рис. 6.11, реакции 7, 10).

6. Аэробный распад глюкозы до конечных продуктов (CO_2 и H_2O) включает в себя реакции аэробного гликолиза (рис. 6.11, реакции 1—10) и последующее окисление пирувата в общем пути катаболизма (реакция 13). Таким образом, аэробный распад глюкозы — это процесс полного ее окисления до CO_2 и H_2O, а аэробный гликолиз — часть аэробного распада глюкозы.

Тема 6.6. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КАТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ. РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССА

Основное биологическое назначение катаболизма глюкозы заключается в *использовании энергии, освобождающейся в этом процессе для синтеза АТФ.*

1. Аэробный катаболизм глюкозы до CO_2 и H_2O происходит во многих органах и тканях и служит основным, хотя и не единственным, источником энергии для жизнедеятельности. Некоторые ткани находятся в наибольшей

зависимости от катаболизма глюкозы как источника энергии. Например, клетки мозга расходуют до 100 г глюкозы в сутки, окисляя ее аэробным путем. Поэтому недостаточное снабжение мозга глюкозой или гипоксия проявляются симптомами, свидетельствующими о нарушении функций мозга (головокружения, судороги, потеря сознания). Во время продолжительной физической активности синтез АТФ в мышцах происходит в основном за счет **аэробного распада глюкозы**. Интенсивность этого процесса в мышцах ограничивается количеством кислорода, поступающего в митохондрии и активностью митохондриальных ферментов, обеспечивающих полное окисление глюкозы (активность этих ферментов достигает предела, например, во время бега хорошо тренированного стайера со скоростью 6 м/с). В эритроцитах возможен только анаэробный катаболизм глюкозы, так как клетки не имеют митохондрий.

Итак, соотношение доли аэробного и анаэробного катаболизма глюкозы в производстве энергии зависит от наличия митохондрий в клетках, их количеств, а также от доступности кислорода.

Баланс АТФ при аэробном гликолизе

Реакции, связанные с синтезом АТФ в аэробном гликолизе, происходят после распада глюкозы на две фосфотриозы, т.е. на втором этапе гликолиза. На этом этапе происходят две реакции субстратного фосфорилирования и синтезируется **две молекулы АТФ** (рис. 6.14, реакции 7 и 10). Кроме того, одна молекула глицеральдегид-3-фосфата дегидрируется (рис. 6.14, реакция 6), а NADH передает водород в митохондриальную ЦПЭ, где синтезируется **три или две молекулы АТФ** (в зависимости от челночного механизма, который работает в клетке) путем окислительного фосфорилирования. Следовательно, окисление до пирувата одной молекулы глицеральдегид-3-фосфата сопряжено с синтезом **пяти молекул АТФ** (если участвует малат-аспартатный челнок). Учитывая, что из глюкозы образуется две фосфотриозы, полученную величину нужно удвоить и затем вычесть две молекулы АТР, затраченные на первом этапе. Таким образом, суммарный эффект аэробного гликолиза составляет **(5 · 2) – 2 = 8 АТФ**.

Баланс АТФ при аэробном катаболизме глюкозы до CO_2 и H_2O

Энергетическая эффективность аэробного катаболизма глюкозы до конечных продуктов определяется количеством АТФ, синтезируемого в аэробном гликолизе и окислении пирувата в общем пути катаболизма.

В результате аэробного гликолиза образуются две молекулы пирувата. Энергетическая эффективность окисления пирувата в ОПК составляет 15 моль АТФ, а двух молекул пирувата — соответственно 30 моль АТФ (см. модуль 5).

Таким образом, выход АТФ при окислении 1 моль глюкозы до CO_2 и H_2O равна сумме: 8 моль АТФ (энергетический эффект аэробного гликолиза) + 30 моль АТФ (эффект окисления 2 моль пирувата в ОПК) и **составляет 38 моль АТФ**.

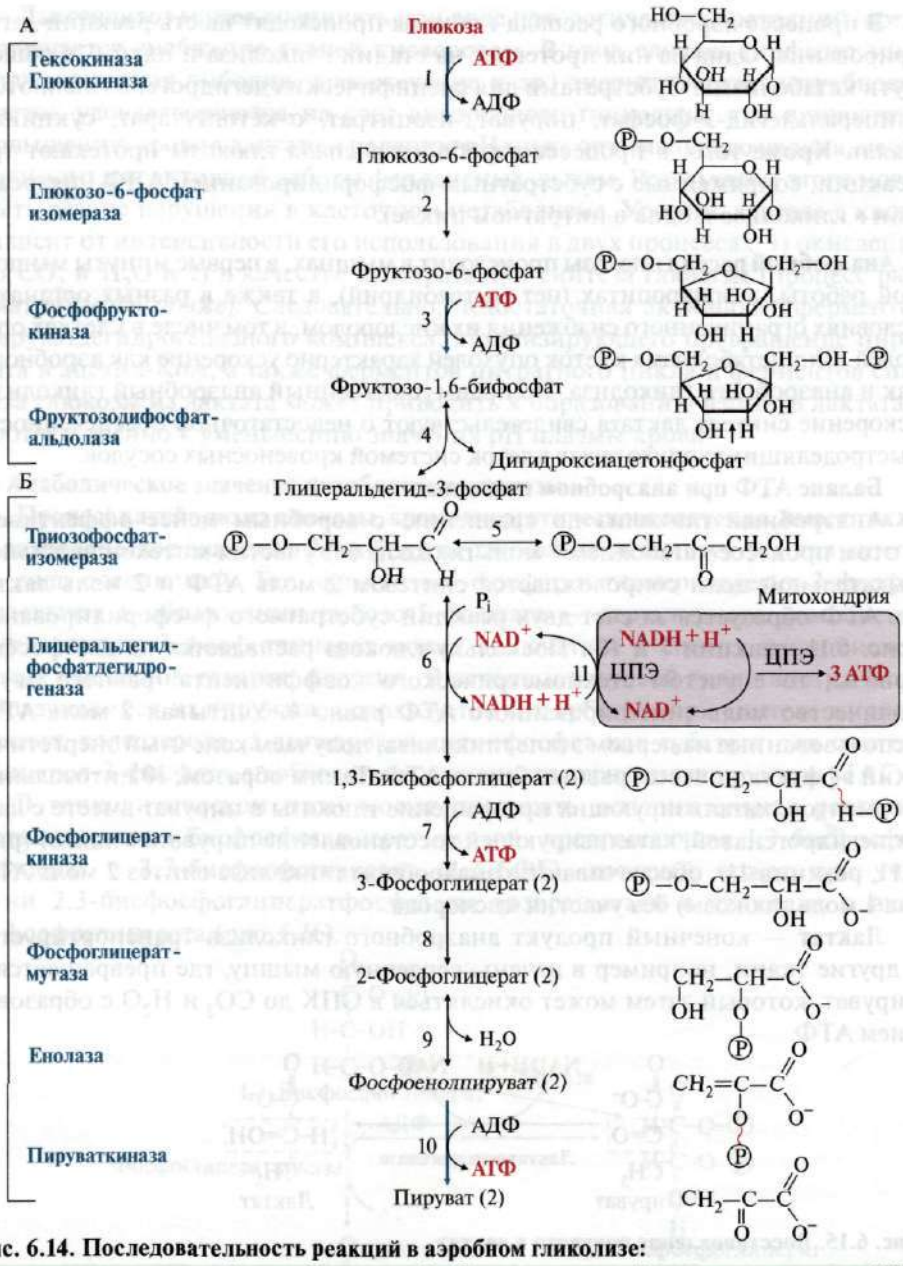


Рис. 6.14. Последовательность реакций в аэробном гликолизе:
А — подготовительный этап (реакции 1—5), сопряженный с использованием АТФ (реакции 1, 3); Б — этап, сопряженный с синтезом АТФ (реакции 6—10); Х — малат-аспартатная челночная система переноса водорода из цитозоля в митохондрии; (2) — стехиометрический коэффициент; Ⓟ — фосфатный остаток. ~ — макроэргическая связь с фосфатным остатком в 1,3-бисфосфоглицерате и фосфоенолпирувате; 11 — транспорт водорода в митохондрии на ЦПЭ (глицерофосфатный или малат-аспертатный челнок)

В процессе аэробного распада глюкозы происходят шесть реакций дегидрирования. Одна из них протекает на стадии гликолиза и пять — в общем пути катаболизма. Субстратами для специфических дегидрогеназ являются: глицеральдегид-3-фосфат, пируват, изоцитрат, α-кетоглутарат, сукцинат, малат. Кроме того, в процессе аэробного распада глюкозы протекают три реакции, сопряженные с субстратным фосфорилированием АДФ (две реакции в гликолизе и одна в цитратном цикле).

2. Анаэробный распад глюкозы происходит в мышцах, в первые минуты мышечной работы, в эритроцитах (нет митохондрий), а также в разных органах в условиях ограниченного снабжения их кислородом, в том числе в клетках опухолей. Для метаболизма клеток опухолей характерно ускорение как аэробного, так и анаэробного гликолиза. Но преимущественный анаэробный гликолиз и ускорение синтеза лактата свидетельствуют о недостаточной обеспеченности быстроделящихся опухолевых клеток системой кровеносных сосудов.

Баланс АТФ при анаэробном гликолизе

Анаэробный гликолиз по сравнению с аэробным менее эффективен. В этом процессе катаболизм 1 моль глюкозы без участия митохондриальной дыхательной цепи сопровождается синтезом 2 моль АТФ и 2 моль лактата. АТФ образуется за счет двух реакций субстратного фосфорилирования (рис. 6.11, реакции 7 и 10). Поскольку глюкоза распадается на две фосфотриозы, то с учетом стехиометрического коэффициента, равного двум, количество моль синтезированного АТФ равно 4. Учитывая 2 моль АТФ, использованные на первом этапе гликолиза, получаем конечный энергетический эффект процесса, равный 2 моль АТФ. Таким образом, 10 цитозольных ферментов, катализирующих превращение глюкозы в пируват вместе с лактатдегидрогеназой, катализирующей восстановление пирувата в лактат (рис. 6.11, реакция 11), обеспечивают в анаэробном гликолизе синтез 2 моль АТФ (на 1 моль глюкозы) без участия кислорода.

Лактат — конечный продукт анаэробного гликолиза транспортируется в другие ткани, например в печень, сердечную мышцу, где превращается в пируват, который затем может окисляться в ОПК до CO_2 и H_2O с образованием АТФ.

Рис. 6.15. Восстановление пирувата в лактат

Окисление молочной кислоты в мышце сердца не только ведет к образованию энергии, но и способствует поддержанию постоянства pH крови. Концентрация лактата в крови зависит от интенсивности и длительности работы. В условиях покоя концентрация лактата равна 1 ммоль/л, при тяжелой работе она может превышать 15 ммоль/л, что приводит к понижению pH крови — **лактоацидозу**.

Лактоацитоз может возникать при ряде патологических состояний, когда нарушается снабжение тканей кислородом. В этих случаях (инфаркт миокарда, легочная эмболия, кровотечение и др.) энергетические потребности клеток удовлетворяются на счет анаэробного гликолиза, что приводит к повышению уровня лактата и падению pH ниже оптимального уровня, необходимого для активной работы ферментных систем. Результатом этого могут быть резкие нарушения в клеточном метаболизме. Уровень лактата в крови зависит от интенсивности его использования в двух процессах: 1) окисления до CO_2 и H_2O и 2) в качестве субстрата для синтеза глюкозы (процесс рассматривается позже). Следовательно, недостаточная активность ферментов пируватдегидрогеназного комплекса, катализирующего превращение пирувата в ацетил-КоА, а также ферментов цитратного цикла и ферментов синтеза глюкозы из лактата может приводить к образованию избытка лактата и соответственно к уменьшению значения pH плазмы крови.

3. Анаболическое значение катаболизма глюкозы.

Процесс катаболизма глюкозы, кроме энергетического значения, имеет также и анаболическое значение. Метаболиты гликолиза используются для синтеза ряда соединений. Так, фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат участвуют в образовании рибозо-5-фосфата — структурного компонента нуклеотидов; 3-фосфоглицерат может включаться в синтез аминокислот, таких как серин, глицин, цистеин. В печени и жировой ткани ацетил-КоА, образующийся из пирувата, используется как субстрат при синтезе жирных кислот, холестерола, а дигидроксиацетонфосфат как субстрат для синтеза глицерол-3-фосфата, необходимого для синтеза триацилглицеролов (ТАГ).

В гликолитическом пути может протекать дополнительная реакция, катализируемая бисфосфоглицератмутазой, превращающая 1,3-бисфосфоглицерат в **2,3-бисфосфоглицерат (2,3-БФГ)**, который может при участии 2,3-бисфосфоглицератфосфатазы возвращаться в гликолиз в виде 3-фосфоглицерата (рис. 6.16).

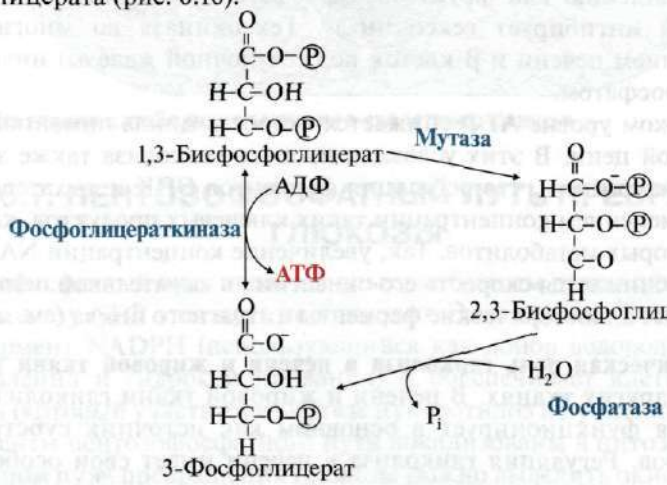


Рис. 6.16. Образование и катаболизм 2,3-бисфосфоглицерата

В большинстве тканей 2,3-БФГ образуется в небольших количествах. В эритроцитах его содержание значительно, так как он выполняет роль аллостерического регулятора функции гемоглобина. 2,3-БФГ, связываясь с гемоглобином, понижает его сродство к кислороду, способствует его диссоциации и переходу в ткани (см. модуль 1).

4. Регуляция катаболизма глюкозы в скелетных мышцах. Основное значение гликолиза — синтез АТФ, поэтому его скорость должна коррелировать с затратами энергии в организме.

Большинство реакций гликолиза обратимы за исключением трех, катализируемых **гексокиназой**, **фосфофруктокиназой** и **пируваткиназой**. Регуляторные факторы, изменяющие скорость гликолиза, а значит, и образование АТФ, направлены на необратимые реакции. Показателем потребления АТФ является накопление АДФ и АМФ — продуктов распада АТФ.

Даже небольшой расход АТФ ведет к заметному увеличению АДФ и АМФ. Отношение уровня АТФ к АДФ и АМФ характеризует энергетический статус клетки, а его составляющие служат аллостерическими регуляторами скорости как общего пути катаболизма, так и гликолиза (рис. 6.17).

Существенное значение для регуляции гликолиза имеет изменение активности фосфофруктокиназы, поскольку этот фермент катализирует наиболее медленную реакцию процесса. Фосфофруктокиназа активируется АМФ, но ингибируется АТФ. АМФ, связываясь с аллостерическим центром фосфофруктокиназы, увеличивает сродство фермента к фруктозо-6-фосфату и повышает скорость его фосфорилирования.

Повышение уровня АТФ относительно АДФ снижает скорость этой реакции, поскольку АТФ в этих условиях действует как ингибитор: связывается с аллостерическим центром фермента, вызывает конформационные изменения и уменьшает его сродство к субстрату — фруктозо-6-фосфату.

Снижение активности фосфофруктокиназы при высоком уровне АТФ ведет к накоплению как фруктозо-6-фосфата, так и глюкозо-6-фосфата, а последний ингибирует гексокиназу. Гексокиназа во многих тканях (за исключением печени и β-клеток поджелудочной железы) ингибируется глюкозо-6-фосфатом.

При высоком уровне АТФ снижается скорость цикла лимонной кислоты и дыхательной цепи. В этих условиях процесс гликолиза также замедляется. Следует напомнить, что регуляция ферментов ОПК и дыхательной цепи связана с изменением концентрации таких ключевых продуктов, как NADH, АТФ и некоторых метаболитов. Так, увеличение концентрации NADH, в том случае, если снижается скорость его окисления в дыхательной цепи, ингибирует некоторые аллостерические ферменты цитратного цикла (см. модуль 5).

5. Физиологическая роль гликолиза в печени и жировой ткани несколько иная, чем в других тканях. В печени и жировой ткани гликолиз в период пищеварения функционирует в основном как источник субстратов для синтеза жиров. Регуляция гликолиза в печени имеет свои особенности и будет рассмотрена позже.

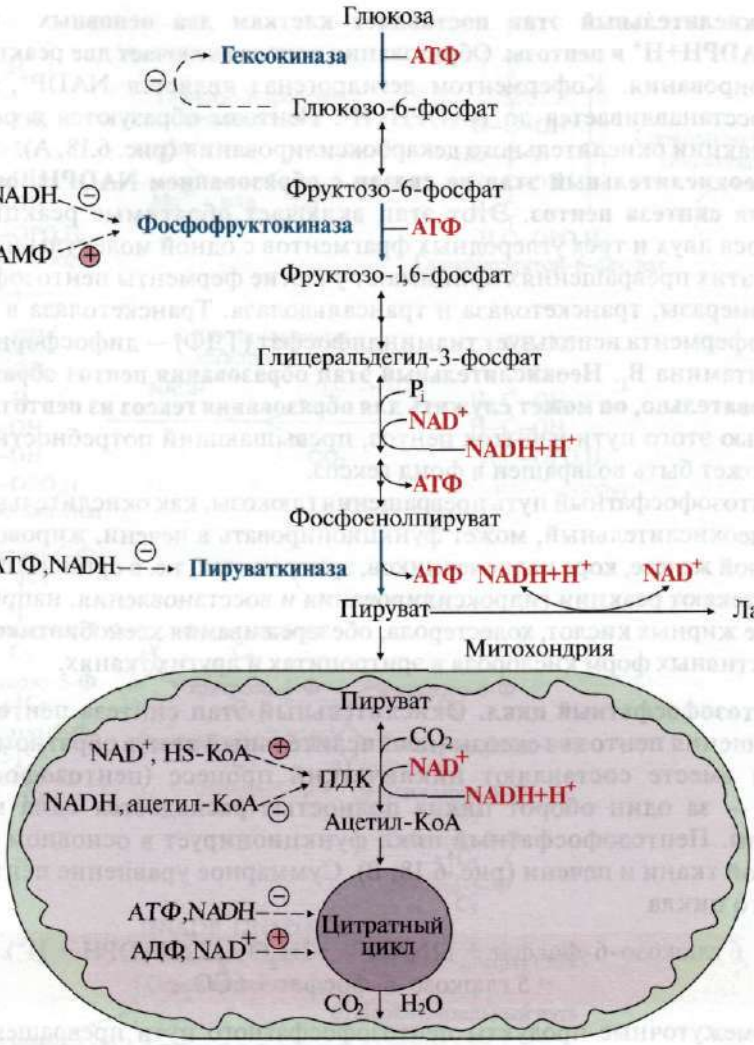


Рис. 6.17. Регуляция катаболизма глюкозы в скелетных мышцах

ТЕМА 6.7. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ ПРЕВРАЩЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ

1. Пентозофосфатный путь является альтернативным путем окисления глюкозы. К синтезу АТФ этот путь не приводит. Этот процесс поставляет клеткам кофермент NADPH (использующийся как донор водорода в реакциях восстановления и гидроксилирования) и обеспечивает клетки рибозо-5-фосфатом (который участвует в синтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот). Все ферменты пентозофосфатного пути локализованы в цитозоле. В пентозофосфатном пути превращения глюкозы можно выделить окислительный и неокислительный этапы образования пентоз.

- **Окислительный этап поставляет клеткам два основных продукта $NADPH+H^+$ и пентозы.** Образования пентоз включает две реакции дегидрирования. Коферментом дегидрогеназ является $NADP^+$, который восстанавливается до $NADPH+H^+$. Пентозы образуются в результате реакции окислительного декарбоксилирования (рис. 6.18, А).
- **Неокислительный этап не связан с образованием NADPH, он служит для синтеза пентоз.** Этот этап включает обратимые реакции переноса двух и трех углеродных фрагментов с одной молекулы на другую. В этих превращениях принимают участие ферменты пентозофосфатизомеразы, транскетолаза и трансальдолаза. Транскетолаза в качестве кофермента использует тиаминдифосфат (ТДФ) — дифосфорный эфир витамина B_1. **Неокислительный этап образования пентоз обратим, следовательно, он может служить для образования гексоз из пентоз.** С помощью этого пути избыток пентоз, превышающий потребности клетки, может быть возвращен в фонд гексоз.

Пентозофосфатный путь превращения глюкозы, как окислительный этап, так и неокислительный, может функционировать в печени, жировой ткани, молочной железе, коре надпочечников, эритроцитах, т.е. в органах, где активно протекают реакции гидроксилирования и восстановления, например при синтезе жирных кислот, холестерола, обезвреживания ксенобиотиков в печени и активных форм кислорода в эритроцитах и других тканях.

2. Пентозофосфатный цикл. Окислительный этап синтеза пентоз и этап возвращения пентоз в гексозы (неокислительный этап в обратном направлении) вместе составляют циклический процесс (пентозофосфатный цикл) — за один оборот цикла полностью распадается одна молекула глюкозы. Пентозофосфатный цикл функционирует в основном только в жировой ткани и печени (рис. 6.18, В). Суммарное уравнение пентозофосфатного цикла

$$6\ \text{глюкозо-6-фосфат} + 12NADP^+ + 2H_2O \rightarrow 12\ (NADPH + H^+) \rightarrow$$
$$\rightarrow 5\ \text{глюкозо-6-фосфат} + 6CO_2.$$

3. Промежуточные продукты пентозофосфатного пути превращения глюкозы (фруктозо-6-фосфат, глицеральдегид-3-фосфат) могут включаться в пути аэробного и анаэробного окисления и служить источником энергии для синтеза АТР.

У растений реакции пентозофосфатного пути составляют часть процесса образования гексоз из CO_2 при фотосинтезе.

4. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы в эритроцитах. В эритроцитах $NADPH + H^+$ используется для защиты этих клеток от активных форм кислорода. В эритроцитах присутствует антиоксидант — тиолсодержащий трипептид — глутатион (Г), восстановленная форма которого содержит SH-группы, участвующие в превращении пероксида водорода в молекулу воды. В этой реакции восстановленная форма глутатиона (Г—SH) переходит в окисленное состояние (Г—S—S—Г). Реакция SH-групп глутатиона

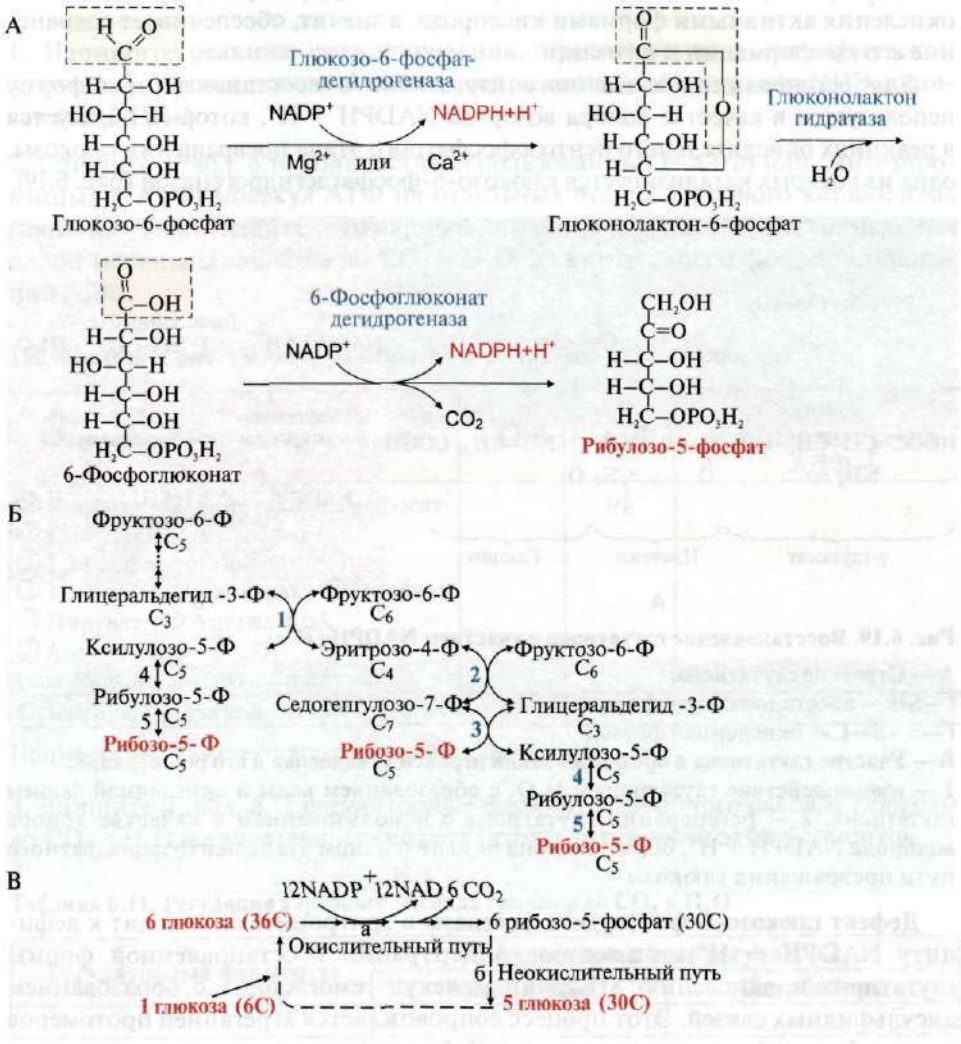


Рис. 6.18. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы:

А — **окислительный этап пентозофосфатного пути.**

Этап включает две реакции дегидрирования. Во второй из этих реакций одновременно происходит декарбоксилирование, углеродная часть укорачивается, образуя пентозы. Коферментом дегидрогеназ является $NADP^+$, который восстанавливается до $NADPH + H^+$;

Б — **неокислительный этап пентозофосфатного пути:**

Ф — остаток фосфорной кислоты, С3—С6 — число углеродных атомов.

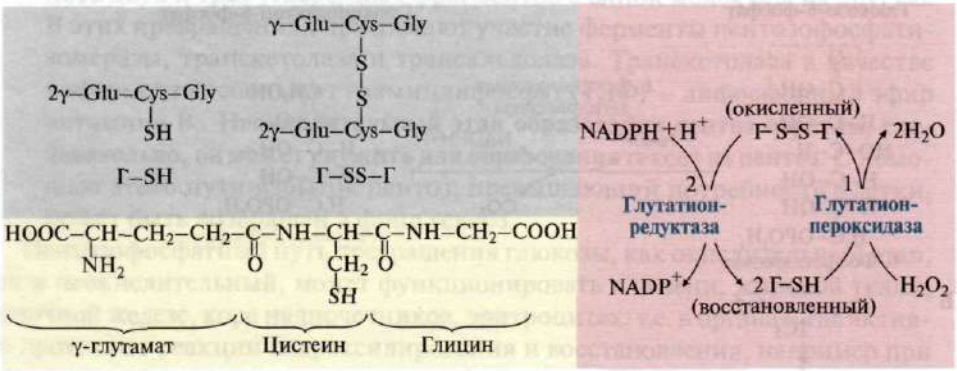
Ферменты: 1 — транскетолаза, кофермент ТДФ; 2 — трансальдолаза; 3 — транскетолаза, кофермент ТДФ; 4, 5 — Пентозофосфатизомеразы;

В — **Пентозофосфатный цикл:**

а — окислительный этап; б — неокслительный этап в обратном направлении

с H_2O_2 предохраняет цистеиновые остатки в протомерах гемоглобина от *окисления активными формами кислорода, а значит, обеспечивает сохранение* его конформации и функции.

Для регенерации окисленного глутатиона в восстановленную форму используется в качестве донора водорода NADPH + H^+, который образуется в реакциях окислительного пентозофосфатного этапа превращения глюкозы, одна из которых катализируется глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (рис. 6.19).



А Б

Рис. 6.19. Восстановление глутатиона с участием NADPH+H⁺:

А — **Строение глутатиона:**
Г—SH — восстановленная форма;
Г—S—S—Г — окисленная форма;
Б — **Участие глутатиона в обезвреживании пероксида водорода и его регенерация:**
1 — взаимодействие глутатиона с H_2O_2 с образованием воды и окисленной формы глутатиона; 2 — регенерация глутатиона с использованием в качестве донора водорода NADPH + H^+, образуемой на окислительном этапе пентозофосфатного пути превращения глюкозы

Дефект глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах приводит к дефициту NADPH + H^+, снижению концентрации восстановленной формы *глутатиона и окислению SH-групп молекул гемоглобина с образованием* дисульфидных связей. Этот процесс сопровождается агрегацией протомеров гемоглобина и формированием телец Хайнца. Эритроциты теряют пластичность, необходимую для прохождения через капилляры, нарушается целостность мембраны, что может привести к гемолизу.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ, ИЗУЧАЕМЫЕ В МОДУЛЬНОЙ ЕДИНИЦЕ:

1. Концентрация лактата в крови в состоянии покоя — 1 ммоль/л
2. Концентрация глюкозы в крови в норме 80—100 мг/дл (3.3 —5.5 ммоль/л)
3. Энергетический эффект аэробного распада 1 моль глюкозы до CO_2 и H_2O — 38 (36) моль АТФ
4. Энергетический эффект анаэробного распада 1 моль глюкозы — 2 моль АТФ

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Напишите реакцию дегидрирования, протекающую в специфическом пути катаболизма глюкозы. Укажите сопряжение этой реакции с ЦПЭ, написав схему ЦПЭ.

2. Впишите в табл. 6.10 количество использованных (–АТФ) или синтезированных (+АТФ) молекул АТФ на отдельных этапах аэробного катаболизма глюкозы. Подсчитайте суммарный энергетический эффект окисления одной молекулы глюкозы до CO_2 и H_2O. Укажите способ фосфорилирования АДФ.

Таблица 6.10. Синтез и использование АТФ в аэробном распаде глюкозы

Этапы аэробного распада глюкозы	–АТФ	+АТФ	Способ фосфорилирования АДФ
② Глюкоза → ② Глицеральдегидфосат ② Глицеральдегидфосфат→ ② 1,3 Бисфосфоглицерат ② 1,3-Бисфосфоглицерат→ ② Пируват ② Пируват→ ② Ацетил-КоА ② Ацетил-КоА→ ④ CO_2 (два оборота цитратного цикла)			
Суммарный результат			

Примечание. ② — стехиометрический коэффициент.

3. Впишите в табл. 6.11 регуляторные ферменты аэробного распада глюкозы до CO_2 и H_2O и аллостерические регуляторы активности этих ферментов.

Таблица 6.11. Регуляция аэробного распада глюкозы до CO_2 и H_2O

Регуляторные ферменты	Аллостерические регуляторы	
	Активаторы	Ингибиторы

4. Ознакомьтесь с табл. 6.12.

Таблица 6.12. Энергетические показатели организма при различных физиологических состояниях

Физиологическое состояние	Скорость		
	расходования АТФ, мкмоль/(мин г.ткани)	потребления кислорода, мкмоль/(мин г.ткани)	синтеза АТФ при участии ЦПЭ мкмоль/(мин г.ткани)
Покоя	5	0,8	20
Интенсивной работы (быстрый бег)	600	20	120

Проанализируйте данные таблицы и объясните, почему при переходе из состояния покоя в состояние интенсивной физической работы изменяется скорость расходования АТФ, потребления кислорода, синтеза АТФ. Укажите, с помощью каких регуляторных механизмов изменяется скорость синтеза АТФ.

5. Используя информацию, приведенную на рис. 6.18 и 6.19, ответьте на тестовые вопросы.

1. Выберите правильные ответы.

Окислительный этап синтеза пентоз включает реакции:

А. Дегидрирования и декарбоксилирования

Б. Превращения пентоз в гексозы

В. Образования доноров водорода для реакций восстановления и гидроксилирования

Г. Сопряженные с ЦПЭ

Д. С участием ферментов транскетолаз

2. Установите соответствие.

А. $NADH + H^+$

Б. $NADPH + H^+$

В. $FADH_2$

Г. Восстановленная форма глутатиона (Г—SH)

Д. Окисленная форма глутатиона (Г—S—S—Г)

1. Участвует в реакции обезвреживания ксенобиотиков в печени
2. Окисляется NADH-дегидрогеназой в ЦПЭ
3. Образуется в реакциях защиты гемоглобина от окисления активными формами кислорода

3. Выберите правильные ответы.

Пентозофосфатный цикл включает реакции:

А. Совместного протекания окислительного пути синтеза пентоз и пути возврата пентоз в гексозы

Б. Протекающие с участием витамина B_1

В. Протекающие с участием витамина PP

Г. Необратимые

Д. Образования $NADPH + H^+$.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

Катаболизм глюкозы:

А. Может протекать как в аэробных, так и в анаэробных условиях

Б. Локализован только в митохондриях клеток

В. Промежуточные продукты используются в анаболических процессах

Г. Обеспечивает (максимально) синтез 38 моль АТФ при катаболизме одной молекулы глюкозы

Д. Регулируется аллостерически в зависимости от энергетических потребностей клетки

2. Выберите правильные ответы.

Аэробный катаболизм глюкозы до CO_2 и H_2O:

А. Включает общий путь катаболизма

Б. Обеспечивает синтез 6 моль АТФ путем субстратного фосфорилирования

В. Сопряжен с ЦПЭ

Г. Угнетается при гиповитаминозах PP, B_2, B_1

Д. Происходит только в цитозоле клетки

3. Выберите правильные ответы.

Специфический путь аэробного катаболизма глюкозы до CO_2 и H_2O включает:

А. Две необратимые реакции

Б. Три реакции, требующие затраты АТФ

В. Одну окислительно-восстановительную реакцию

Г. Две реакции субстратного фосфорилирования

Д. Одну реакцию, сопряженную с ЦПЭ

4. Установите соответствие.

Этапы катаболизма глюкозы:

А. Цитрат → α-Кетоглутарат

Б. Глюкоза → Фруктозо-1,6-бисфосфат

В. Фосфоенолпируват → Лактат

Г. Глицеральдегид-3-фосфат → Пируват

Д. Глюкозо-6-фосфат → 3-фосфоглицерат

Реакции, протекающие на данном этапе:

1. Восстановление с участием водорода $NADH + H^+$
2. Две реакции субстратного фосфорилирования
3. Окисление и декарбоксилирование

5. Установите соответствие.

Процессы:

А. Окисление глюкозы в анаэробном гликолизе

Б. Окисление глюкозы в аэробном гликолизе

В. Окисление пирувата в общем пути катаболизма до CO_2 и H_2O

Г. Аэробный распад глюкозы до CO_2 и H_2O

Д. Окислительное декарбоксилирование пирувата

Энергетический эффект процесса (в расчете на окисление 1 моль исходного субстрата):

1. 15 моль АТФ
2. 8 моль АТФ
3. 3 моль АТФ

6. Выполните «цепное» задание:

а) в ходе гликолиза в эритроцитах протекает реакция:

А. Глюкозо-6-фосфат → Глюкоза

Б. Пируват → Фосфоенопируват

В. Глюкозо-6-фосфат → Глюкозо-1-фосфат

Г. Глицеральдегид-3-фосфат → 1,3-бисфосфоглицерат

Д. Оксалоацетат → Малат

б) эту реакцию катализирует фермент:

А. Пируваткиназа

Б. Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа

В. Енолаза

Г. Триозофосфатизомераза

Д. Фосфоглицераткиназа

в) одним из продуктов реакции, катализируемой этим ферментом является:

А. $FAD \cdot H_2$

Б. Пируват

В. $NADH + H^+$

Г. Лактат

Д. Фосфоенолпируват

г) это вещество далее участвует в реакции:

А. Восстановления пирувата в цитозоле

Б. Окисления в ЦПЭ

В. Окисления пирувата в митохондриях

Г. Превращения фумарата в малат.

Д. Субстратного фосфорилирования АДФ

д) эту реакцию катализирует фермент:

А. NADH-дегидрогеназа

Б. Малатдегидрогеназа

В. Пируватдегидрогеназа

Г. Лактатдегидрогеназа

Д. Глицеролдегидрогеназа

е) этот фермент (выберите все правильные ответы):

А. Обеспечивает регенерацию цитозольного NAD^+

Б. Катализирует необратимую реакцию

В. Имеет органоспецифические изоформы

Г. Катализирует регуляторную реакцию

Д. Используется в энзимодиагностике

7. Выберите правильные ответы.

Ингибирование ферментов ЦПЭ может привести к лактоацидозу, поскольку в этой ситуации:

А. Увеличивается соотношение $NADH—NAD^+$

Б. Уменьшается активность пируватдегидрогеназного комплекса

В. Лактатдегидрогеназа катализирует реакцию восстановления

Г. Повышается скорость реакций цитратного цикла

Д. Уменьшается pH крови

8. Выберите правильный ответ.

Скорость анаэробного распада глюкозы в скелетных мышцах зависит от:

А. Активности малат-аспартатного челнока

Б. Соотношения АТФ—АДФ в клетке

В. Интенсивности транспорта CO_2 в митохондрии клетки

Г. Соотношения $NADPH—NADP^+$

Д. Участия витамина B_6

9. Выберите правильные ответы.

Метаболиты пентозофосфатного пути превращения глюкозы могут быть использованы для синтеза:

А. NAD^+
Б. Пиридоксальфосфата
В. FAD
Г. Тиаминдифосфата
Д. АТФ

10. Выполните «цепное» задание:

а) к классу трансфераз относится фермент:

А. Енолаза
Б. Лактатдегидрогеназа
В. Фруктозо-1,6-дифосфатальдолаза
Г. Протеинкиназа А
Д. Аденилатциклаза

б) этот фермент активируется при взаимодействии с:

А. Ca^{2+}
Б. Диацилглицеролом
В. цАМФ
Г. α-Протомером G-белка
Д. АДФ

в) выбранный активатор образуется в результате реакции, субстратом для которой является:

А. АМФ
Б. АТФ
В. ГТФ
Г. ГДФ
Д. ц-ГМФ

г) это вещество может образоваться в результате реакции:

А. Глюкоза → Глюкозо-6-фосфат
Б. Глюкозо-6-фосфат → Глюкозо-1-фосфат
В. 3-Фосфоглицерат → 2-Фосфоглицерат
Г. Фосфоенолпируват → Пируват
Д. 1.3-Бисфосфоглицерат → 2,3-Бисфосфоглицерат

д) выбранная реакция является одним из этапов:

А. Распада гликогена
Б. Синтеза гликогена
В. Цикла трикарбоновых кислот
Г. Катаболизма глюкозы
Д. Пентозофосфатного пути превращения глюкозы

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. А, В, Г, Д
2. А, Б, В, Г
3. В, Г, Д
4. 1—В, 2—Г, 3—А
5. 1—В, 2—Б, 3—Д
6. а) Г, б) Б, в) В, г) А, д) Г, е) А, В, Д
7. А, Б;,В, Д
8. Б
9. А, В, Д
10. а) Г, б) В, в) Б, г) Г, д) Г

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Аэробный гликолиз — специфический путь катаболизма глюкозы
2. Анаэробный гликолиз — катаболизм глюкозы без участия кислорода
3. Аэробный распад глюкозы до CO_2 и H_2O
4. Регенерация NAD^+
5. Челночные системы транспорта водорода в аэробном гликолизе:
   - малат-аспартатный челнок;
   - глицерофосфатный челнок;
6. Гипоксия — снижение снабжения тканей кислородом
7. Энергетический статус клетки — отношение АТФ/АДФ
8. Лактоацидоз — снижение PH крови при накоплении лактата
9. Анаболические функции катаболизма глюкозы
10. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы. Этапы:
    - окислительный этап синтеза пентоз;
    - неокислительный этап синтеза пентоз
11. Пентозофосфатный цикл

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Формой депонирования глюкозы является гликоген, который синтезируется в абсорбтивном периоде с затратой энергии. Учитывая, что основным источником АТФ для синтеза гликогена является аэробный распад глюкозы, определите: во что обходится организму хранение глюкозы в виде гликогена.

Рассчитайте: сколько моль глюкозы необходимо окислить, чтобы обеспечить энергией синтез 35 г гликогена (35 г гликогена соответствует примерно 200 моль глюкозных остатков). Энергию УТФ считать эквивалентной АТФ. Расчет обоснуйте. Для этого:

а) напишите схему синтеза гликогена;
б) укажите количество АТФ, необходимое для присоединения одного мономера к молекуле гликогена. Рассчитайте количество АТФ, используемое для синтеза цепи из 200 мономерных остатков;

в) укажите энергетический эффект аэробного распада 1 моль глюкозы до CO_2 и H_2O;

г) укажите, каким способом идет синтез АТФ в этом процессе, напишите схему одной из реакций, сопряженную с синтезом ЦПЭ, и схему ЦПЭ;

д) сопоставьте количество АТФ, затраченное при синтезе гликогена, с количеством АТФ, образовавшимся при окислении глюкозы, и ответьте на вопрос задачи.

2. Хрусталик глаза является светопреломляющей средой глаза, и митохондрии в нем отсутствуют. В качестве источника энергии в хрусталике используется глюкоза. Какой путь катаболизма глюкозы обеспечивает энергией АТФ хрусталик глаза? Для ответа на вопрос:

а) напишите схему метаболического пути, обеспечивающего хрусталик глаза энергией. Укажите ферменты, коферменты реакций;

б) на схеме отметьте реакции, сопряженные с использованием и синтезом АТФ, рассчитайте максимальный выход АТФ в ходе этого процесса;

в) назовите способ синтеза АТФ в этом процессе;

г) перечислите ткани и клетки, в которых синтез АТФ происходит так же, как в хрусталике, укажите причину только такого способа фосфорилирования АДФ в этих клетках;

д) напишите, используя формулы, реакцию дегидрирования, протекающую в этом процессе, и реакцию образования конечного продукта;

е) укажите, каким дальнейшим превращениям может подвергаться конечный продукт этого процесса и последствия, возникающие при его накоплении.

3. Превращение пируватавлактат—обратимаяреакция,котораякатализируется лактатдегидрогеназой (ЛДГ), являющейся олигомером. Лактатдегидрогеназа представляет собой тетрамер, состоящий из М- и Н-субъединиц, которые, комбинируясь между собой, образуют пять различных тетрамеров (М4, М3Н1, М2Н2, М1Н3, Н4). Эти изоферменты отличаются друг от друга первичной структурой и обладают различными физико-химическими свойствами, а следовательно, разным сродством к субстрату. Кроме того, они имеют различную органную локализацию. Для мышцы сердца характерен изомер Н4, для скелетных мышц — М4. В мышце сердца ЛДГ (Н4) преимущественно катализирует реакцию превращения лактата в пируват.

Объясните роль этого изофермента в метаболизме сердечной мышцы. Для ответа на вопрос:

а) напишите реакцию, катализируемую данным ферментом в мышце сердца;

б) напишите схему процесса, обеспечивающего включение продукта этой реакции в дальнейший путь окисления до CO_2 и H_2O в мышце сердца и рассчитайте энергетический эффект процесса;

в) укажите, какие органы и клетки поставляют продукт реакции, катализируемой ЛДГ, в кровь:

- в состоянии покоя;
- в начальный период интенсивной работы.

4. В опыте к гомогенату мышц добавили глюкозу. Сколько молей АТФ может синтезироваться за счет энергии окисления 1 моль глюкозы в специфическом пути катаболизма, если в опыте использовали гомогенат ткани с нативными митохондриями, но в присутствии барбитуратов? Для ответа на вопрос напишите:

а) схему метаболического пути, в котором синтезируется АТФ в этих условиях;

б) схему процесса, который нарушают барбитураты в выбранном метаболическом пути, и укажите механизм их действия.

5. Катаболизм глюкозы с образованием пирувата может происходить как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Сколько моль АТФ будет синтезироваться при распаде глюкозы до двух молекул пирувата в аэробных и анаэробных условиях? Для ответа на вопрос:

а) представьте схему гликолиза и отметьте реакции, сопряженные с использованием и синтезом АТФ;

б) напишите, используя формулы, окислительную реакцию гликолиза и опишите пути использования NADH в аэробных и анаэробных условиях.

6. Спринтер и стайер соревнуются на двух дистанциях — 100 м и 10 км. Спринтер завершает стометровку, стайер бежит десятый километр. Укажите различия в энергетическом обеспечении работы мышц у этих бегунов. Для решения задачи:

а) приведите схему катаболизма глюкозы, который является источником энергии для работы мышц у стайера;

б) укажите энергетический эффект специфического и общего пути катаболизма, способы синтеза АТФ;

в) выпишите субстраты, вступающие в реакции дегидрирования, укажите путь водорода от одного из субстратов к кислороду в ЦПЭ;

г) укажите различия в ходе процесса, в составе конечных продуктов и энергетическом эффекте специфического пути катаболизма глюкозы у спринтера и стайера.

7. У пациентов с заболеваниями легких, при которых развивается общая гипоксия тканей (снижение снабжения кислородом), в гликолитическом пути в эритроцитах может протекать дополнительная реакция, катализируемая 1,3-бисфосфоглицератмутазой в обход стадии, катализируемой 1,3-бисфосфоглицераткиназой. Объясните, почему при этом поступление кислорода в ткани возрастает, а энергетический эффект гликолиза снижается. Для ответа:

а) напишите реакцию, катализируемую 1,3-бисфосфоглицератмутазой, назовите субстрат и продукт. Укажите, способен ли продукт реакции возвращаться в гликолиз? Ответ обоснуйте, написав реакцию;

б) подсчитайте энергетический эффект гликолиза в эритроцитах с участием бисфосфоглицератмутазы и без нее;

в) укажите, какую роль выполняет продукт реакции, катализируемой бисфосфоглицератмутазой.

8. Во время обследования у пациента выявлены анемия и наличие в эритроцитах телец Хайнца — результат агрегации протомеров гемоглобина вследствие окисления SH-групп цистеиновых остатков гемоглобина активными формами кислорода и образования дисульфидных связей. Какие нарушения в метаболизме эритроцитов могут быть причиной данной клинической ситуации. Для решения задачи:

а) укажите, с помощью каких реакций цистеиновые остатки гемоглобина поддерживаются в восстановленном состоянии;

б) назовите кофермент, который участвует в этом процессе;

в) напишите схему процесса, в котором образуется восстановленная форма этого кофермента;

г) укажите дефект работы какого фермента может привести к дефициту необходимого кофермента и быть причиной описанной клинической ситуации.

Модульная единица 3
ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

Цели изучения

Уметь:

1. Интерпретировать связь переключения процессов синтеза и распада глюкозы с ритмом питания и физической нагрузкой.
2. Пояснять причины и последствия лактоацидоза.
3. Объяснять причину гипоглюкоземии при остром алкогольном отравлении.
4. Объяснять причины гиперглюкоземии и гипоглюкоземии.

Знать:

1. Основные этапы (схему и реакции) глюконеогенеза.
2. Пути включения в глюконеогенез лактата, аминокислот и глицерола в зависимости от физиологического состояния организма.
3. Регуляцию гликолиза и глюконеогенеза в печени.

ТЕМА 6.8. СИНТЕЗ ГЛЮКОЗЫ (ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ)

1. Глюконеогенез — это процесс синтеза глюкозы из веществ неуглеводной природы. Субстратами глюконеогенеза являются **пируват, лактат, глицерол, аминокислоты**. Важнейшей функцией глюконеогенеза является **поддержание уровня глюкозы** в крови в период длительного голодания и интенсивных физических нагрузок. Постоянное поступление глюкозы в качестве источника энергии особенно необходимо для нервной ткани и эритроцитов.

Процесс протекает главным образом в **печени** и менее интенсивно — в корковом веществе почек, а также в слизистой оболочке кишечника. Включение различных субстратов в глюконеогенез зависит от физиологического состояния организма:

— лактат является продуктом анаэробного гликолиза в эритроцитах, работающих мышцах и других тканях с низким содержанием O_2;
— глицерол высвобождается при гидролизе жиров в жировой ткани в постабсорбтивный период или при физической нагрузке;
— аминокислоты образуются в результате распада белков мышц и соединительной ткани и включаются в глюконеогенез при длительном голодании или продолжительной мышечной нагрузке.

2. Большинство реакций гликолиза и глюконеогенеза являются обратимыми и катализируются одними и теми же ферментами (рис. 6.20). Четыре реакции глюконеогенеза необратимы.

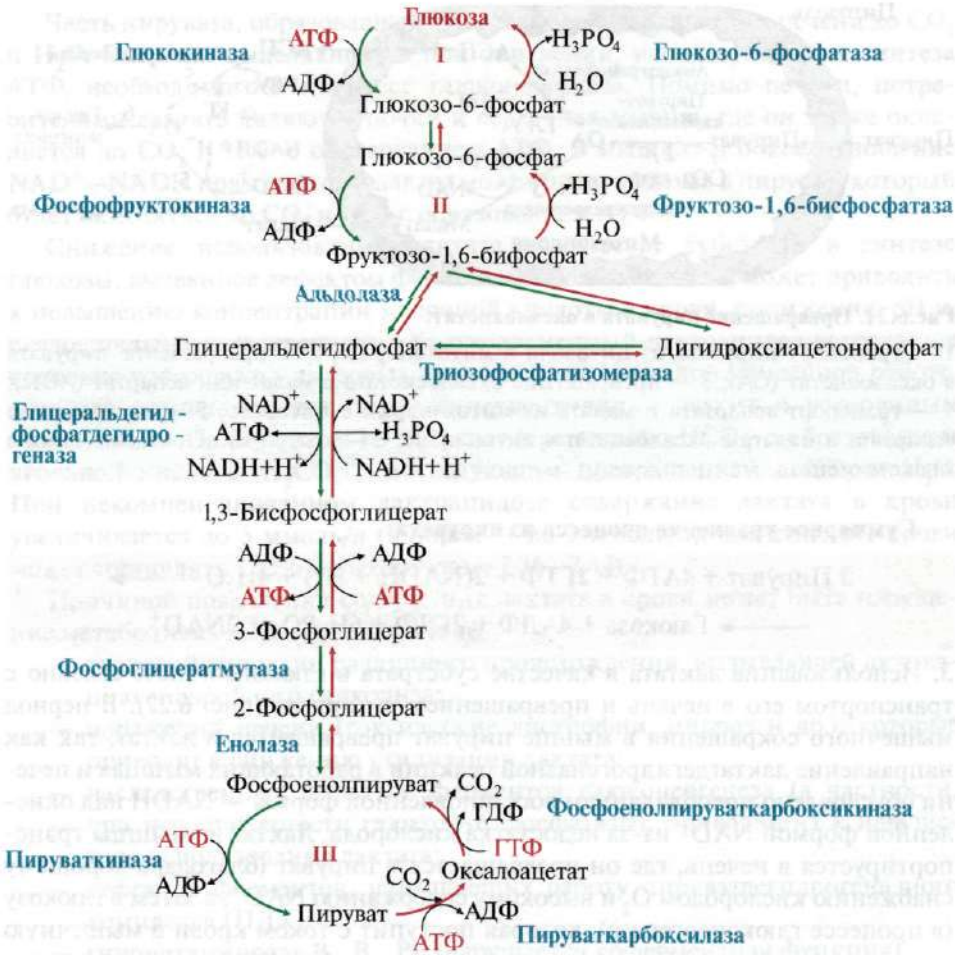


Рис. 6.20. Схема гликолиза и глюконеогенеза.

Представлена схема метаболических путей: гликолиза (слева) и глюконеогенеза (справа). Ферменты указаны синим цветом. I—III — субстратные циклы, образованные в ходе необратимых реакций гликолиза и глюконеогенеза

Катализатором превращения пирувата в оксалоацетат является биотинсодержащий митохондриальный фермент — пируваткарбоксилаза (рис. 6.21). В митохондриях под действием ферментов малатдегидрогеназы и аминотрансферазы образуется малат и аспартат из оксалоацетата, которые пассивным антипортом удаляются из митохондрии. В цитозоле малат и аспартат в результате соответствующих реакций превращаются в оксалоацетат, который декарбоксилируется и фосфорилируется под действием фосфоенолпируваткарбоксикиназы (ФЕПКК). Все остальные реакции глюконеогенеза протекают в цитозоле. В ходе этого процесса на синтез 1 моль глюкозы из 2 моль пирувата расходуется 4 моль АТФ и 2 моль ГТФ.

Рис.6.21. Превращение пирувата в оксалоацетат:

1 — транспорт пирувата из цитозоля в митохондрию; 2 — превращение пирувата в оксалоацетат (ОА); 3 — превращение оксалоацетата в малат или аспартат (АСП); 4 — транспорт аспартата и малата из митохондрии в цитозоль; 5 — превращение аспартата и малата в оксалоацетат в цитоплазме; 6 — поступление оксалоацетата в глюконеогенез

Суммарное уравнение процесса из пирувата:

$$2\ \text{Пируват} + 4\text{АТФ} + 2\text{ГТФ} + 2(\text{NADH} + \text{H}^+) + 4\text{H}_2\text{O} \longrightarrow$$

$$\longrightarrow \text{Глюкоза} + 4\text{АДФ} + 2\text{ГДФ} + 6\text{H}_3\text{PO}_4 + 2\text{NAD}^+.$$

3. Использование лактата в качестве субстрата в глюконеогенезе связано с транспортом его в печень и превращением в пируват (рис. 6.22). В период мышечного сокращения в мышце пируват превращается в лактат, так как направление лактатдегидрогеназной реакции в работающих мышцах и печени обусловлено преобладанием восстановленной формы — NADH над окисленной формой NAD^+ из-за недостатка кислорода. Лактат из мышцы транспортируется в печень, где он превращается в пируват (благодаря хорошему снабжению кислородом O_2 и высокому содержанию NAD^+, а затем в глюкозу (в процессе глюконеогенеза), которая поступит с током крови в мышечную ткань и эритроциты. Эту последовательность событий называют **глюкозо-лактатным циклом или циклом Кори**.

Рис. 6.22. Цикл Кори:

1 — поступление лактата из сокращающейся мышцы и эритроцитов с током крови в печень; 2, 3 — синтез глюкозы из лактата в печени; 4 — поступление глюкозы из печени с током крови в работающую мышцу и в эритроциты; 5, 6 — использование глюкозы как энергетического субстрата сокращающейся мышцей и эритроцитами с образованием лактата

Часть пирувата, образовавшегося из лактата, окисляется в печени до CO_2 и H_2O. Энергия, выделяющаяся при окислении, используется для синтеза АТФ, необходимого в процессе глюконеогенеза. Помимо печени, потребителями лактата являются почки и сердечная мышца, где он также окисляется до CO_2 и H_2O с образованием АТФ. В мышцах в покое отношение NAD^+—NADH повышается и лактат может превращаться в пируват, который будет окисляться до CO_2 и H_2O с образованием АТФ.

Снижение использования лактата в качестве субстрата в синтезе глюкозы, вызванное дефектом ферментов глюконеогенеза, может приводить к повышению концентрации молочной кислоты в крови, понижению pH и, следовательно, к **лактоацидозу**. Кратковременный лактоацидоз встречается довольно часто даже у здоровых людей при интенсивной мышечной работе, который компенсируется путем гипервентиляции легких и ускоренным выведением CO_2. При этом H^+ вступает в реакцию с HCO_3^- с образованием угольной кислоты H_2CO_3 с последующим превращением в CO_2 и H_2O. При некомпенсированном лактоацидозе содержание лактата в крови увеличивается до 5 ммоль/л (в норме — до 2 ммоль/л), значение pH крови может составлять 7,25 и менее (в норме 7,36—7,44).

Причиной повышения содержания лактата в крови может быть нарушение метаболизма пирувата вследствие:

— тканевой гипоксии различного происхождения, вызывающей активацию анаэробного гликолиза;
— поражений печени (токсические дистрофии, цирроз и др.), которые приводят к снижению утилизации лактата;
— наследственных дефектов ферментов глюконеогенеза (в частности, при недостаточности глюкозо-6-фосфатазы), приводящих к нарушению использования лактата;
— дефектов ферментов, нарушающих работу пируватдегидрогеназного комплекса (ПДК);
— гиповитаминозов B_1, B_2, PP (нарушается коферментная функция).

4. Существенное влияние на глюконеогенез оказывает этанол. Метаболизм этанола на 90% происходит в печени.

Превращение этанола включает две реакции дегидрирования с образованием ацетил-КоА и его последующее окисление в цитратном цикле (рис. 6.23). Алкогольдегидрогеназа содержится в основном в печени (95%), а также в других органах (мозге, почках, легких, кишечнике). Для окисления суточной нормы углеводов (500 г) требуется такое же количество NAD^+, как и для окисления 125 г этанола. Частично окисление этанола протекает под действием микросомальных ферментов окисления (см. модуль 12).

В результате катаболизма этанола увеличивается количество NADH, что приводит к смещению лактатдегидрогеназной реакции в сторону образования лактата, снижению образования пирувата и **замедлению глюконеогенеза**.

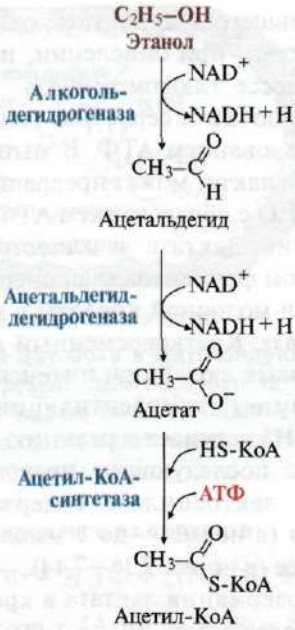


Рис. 6.23. Окисление этанола в печени (ферменты указаны слева синим цветом)

ТЕМА 6.9. РЕГУЛЯЦИЯ ГЛИКОЛИЗА И ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗА В ПЕЧЕНИ

1. Переключение метаболизма печени с гликолиза на глюконеогенез и наоборот происходит при помощи:

— аллостерических механизмов регуляции активности ключевых ферментов;
— ковалентной модификации ферментов путем фосфорилирования (дефосфорилирования) с участием инсулина и глюкагона;
— индукции (репрессии) синтеза ключевых ферментов, катализирующих реакции субстратных циклов.

Регуляция гликолиза и глюконеогенеза в печени направлена на необратимые стадии гликолиза и глюконеогенеза, которые формируют три субстратных цикла (на рис. 6.20 обозначены I, II, III). Название «субстратный цикл» означает объединение реакций синтеза и распада субстрата.

2. Направление реакций **первого субстратного цикла** регулируется главным образом концентрацией глюкозы. При пищеварении (абсорбтивный период) концентрация глюкозы в крови повышается (до 120—140 мг/дл, или 7—8 ммоль/л). Активность глюкокиназы в этих условиях максимальна. Вследствие этого ускоряется реакция **Глюкоза → Глюкозо-6-фосфат**. Поскольку глюкокиназа печени не ингибируется глюкозо-6-фосфатом (в отличие от гексокиназы мышц), то основная часть глюкозо-6-фосфата направляется в гликолиз и на синтез гликогена.

3. Направление реакций **второго субстратного цикла** зависит от активности фосфофруктокиназы и фосфатазы фруктозо-1,6-бисфосфата. В этом цикле действует **фруктозо-2,6-бисфосфат**, который одновременно выполняет функцию аллостерического активатора фосфофруктокиназы (регуляторный фермент гликолиза) и аллостерического ингибитора фосфатазы фруктозо-1,6-бисфосфата (регуляторный фермент глюконеогенеза).

Фруктозо-2,6-бисфосфат образуется в абсорбтивный период путем фосфорилирования фруктозо-6-фосфата при участии бифункционального фермента (БИФ), который в дефосфорилированной форме (БИФ–ОН) проявляет киназную активность (рис. 6.24). Дефосфорилирование БИФ происходит с помощью фермента фосфопротеинфосфатазы, который активируется при высоком инсулин-глюкагоновом индексе за счет инсулинового рецептора.

При низком инсулин-глюкагоновом индексе, характерном для периода голодания, происходит фосфорилирование БИФ (БИФ–OPO_3H_2) с помощью протеинкиназы А, которая активируется вследствие активации аденилатциклазной системы в результате взаимодействия гормона глюкагона с рецепторами. При этом БИФ проявляет фосфатазную активность. В результате

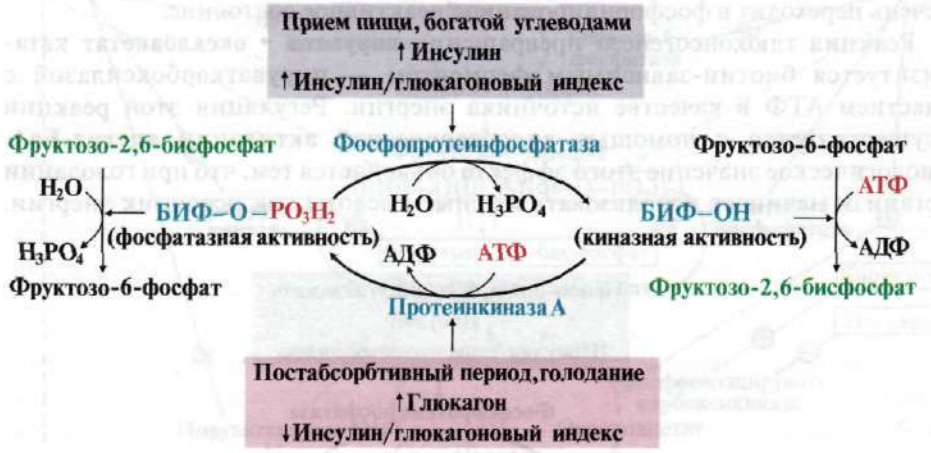


Рис. 6.24. Реакции, катализируемые бифункциональным ферментом (БИФ) в печени.

БИФ катализирует реакции обратимого превращения фруктозо-6-фосфата в фруктозо-2,6-бисфосфат. БИФ может находиться в двух формах: дефосфорилированной (БИФ–ОН) и фосфорилированной (БИФ–OPO_3H_2). БИФ–ОН обладает киназной активностью и способствует образованию фруктозо-2,6-бисфосфата. БИФ–OPO_3H_2 обладает фосфатазной активностью и способствует уменьшению концентрации фруктозо-2,6-бисфосфата и образованию фруктозо-6-фосфата. Фосфорилирование и дефосфорилирование БИФ связано с ритмом питания и регулируется гормонами. Инсулин (абсорбтивный период) активирует фермент фосфопротеинфосфатазу, что приводит к появлению формы БИФ–ОН, а глюкагон (постабсорбтивный период) активирует аденилатциклазную систему, что вызывает активацию протеинкиназы А и появление формы БИФ–OPO_3H_2

уменьшается количество фруктозо-2,6-бисфосфата, что приводит к замедлению гликолиза и переключению метаболизма на глюконеогенез. Наличие двух активностей (киназной и фосфатазной) у БИФ определило название фермента — «бифункциональный».

БИФ присутствует только в гепатоцитах. Киназную и фосфатазную реакции катализируют разные активные центры БИФ, которые функционируют по очереди в зависимости от состояния фермента фосфорилированного или дефосфорилированного. Превращение фруктозо-2,6-бисфосфата в фруктозо-6-фосфат не является обратимым процессом. Образование фруктозо-2,6-бисфосфата требует затрат АТФ, а при образовании фруктозо-6-фосфата из фруктозо-2,6-бисфосфата высвобождается неорганический фосфат.

4. В регуляции **третьего субстратного цикла** основная роль принадлежит пируваткиназе, фосфорилированная форма которой неактивна, а дефосфорилированная активна (рис. 6.25). Дефосфорилирование пируваткиназы происходит в период пищеварения, когда инсулин активирует фосфопротеинфосфатазу, которая дефосфорилирует пируваткиназу, переводя ее в активное состояние. Следовательно, реакция превращения **фосфоенолпируват** в пируват ускоряется при пищеварении (абсорбтивный период). В постабсорбтивном состоянии пируваткиназа при действии глюкагона на печень переходит в фосфорилированное неактивное состояние.

Реакция глюконеогенеза превращения **пирувата → оксалоацетат** катализитуется биотин-зависимым ферментом — пируваткарбоксилазой с участием АТФ в качестве источника энергии. Регуляция этой реакции осуществляется с помощью аллостерической активации **ацетил-КоА**. Биологическое значение этого эффекта объясняется тем, что при голодании организм начинает использовать жирные кислоты как источник энергии.

Рис. 6.25. Регуляция пируваткиназы в печени.

Регуляция активности пируваткиназы в печени осуществляется путем фосфорилирования (дефосфорилирования) в зависимости от ритма питания

Ацетил-КоА — продукт окисления жирных кислот, активируя пируваткарбоксилазу, направляет пируват по пути глюконеогенеза.

5. Координация в регулировании субстратных циклов II и III достигается с помощью фруктозо-1,6-бисфосфата — продукта субстратного цикла II (гликолитическое направление), который является аллостерическим активатором пируваткиназы. В период пищеварения вследствие ускорения начальных стадий гликолиза концентрация фруктозо-1,6-бисфосфата повышается, что приводит к дополнительной активации пируваткиназы.

Общая схема регуляции гликолиза и глюконеогенеза в печени в зависимости от ритма питания представлена на рис. 6.26.

6. Регуляция энергетического статуса гепатоцитов осуществляется путем изменения скорости аэробного распада глюкозы. АТФ, АДФ, АМФ, а также NADH, NAD^+ служат аллостерическими эффекторами ключевых ферментов гликолиза и глюконеогенеза (рис. 6.27).

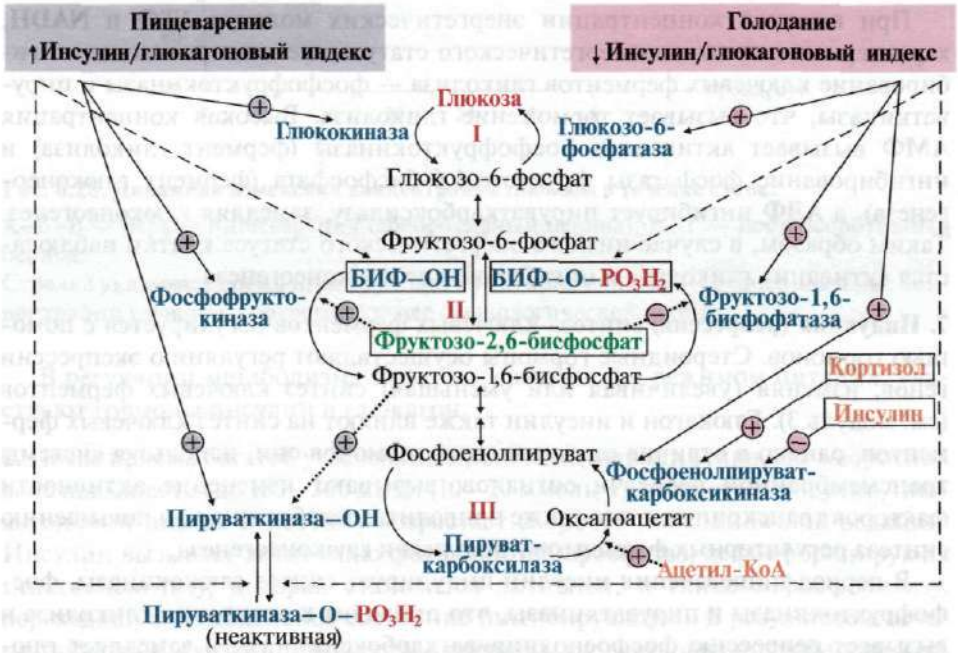


Рис. 6.26. Регуляция гликолиза и глюконеогенеза в печени в зависимости от ритма питания:

БИФ — бифункциональный фермент; I, II, III — субстратные циклы.

На схеме указаны регуляторные ферменты гликолиза и глюконеогенеза, изменяющие свою активность в зависимости от ритма питания. Обозначения:

- - - → регуляция активности путем фосфорилирования (дефосфорилирования);
····· → аллостерическая регуляция (активация — плюс, ингибирование — минус);
——→ регуляция активности по механизму индукции (плюс), репрессии (минус).

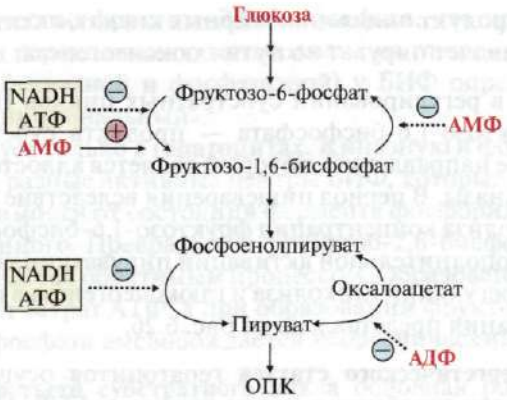


Рис. 6.27. Регуляция аэробного гликолиза и глюконеогенеза в печени энергетическим зарядом клетки:

⊖ – ингибирование; ⊕ – активация; ОПК — общий путь катаболизма

При высокой концентрации энергетических молекул **АТФ** и **NADH**, характерных для высокоэнергетического статуса клетки, происходит ингибирование ключевых ферментов гликолиза — фосфофруктокиназы и пируваткиназы, что вызывает торможение гликолиза. Высокая концентрация **АМФ** вызывает активацию фосфофруктокиназы (фермент гликолиза) и ингибирование фосфатазы фруктозо-1,6-бисфосфата (фермент глюконеогенеза), а **АДФ** ингибирует пируваткарбоксилазу, замедляя глюконеогенез. Таким образом, в случае низкого энергетического статуса клетки наблюдается активация гликолиза и ингибирование глюконеогенеза.

7. Индукция (репрессия) синтеза ключевых ферментов регулируется с помощью гормонов. Стероидные гормоны осуществляют регуляцию экспрессии генов, изменяя (увеличивая или уменьшая) синтез ключевых ферментов (см. модуль 3). Глюкагон и инсулин также влияют на синтез ключевых ферментов, однако в отличие от стероидных гормонов они, используя системы трансмембранной передачи сигналов, вызывают изменение активности факторов транскрипции, что также приводит к ослаблению или повышению синтеза регуляторных ферментов гликолиза и глюконеогенеза.

В период пищеварения инсулин индуцирует синтез глюкокиназы, фосфофруктокиназы и пируваткиназы, что приводит к активации гликолиза и вызывает репрессию фосфоенолпируваткарбоксикиназы и замедляет глюконеогенез.

В постабсорбтивный период глюкагон повышает транскрипцию генов и синтез ключевых ферментов глюконеогенеза — фосфоенолпируваткарбоксикиназы, фруктозо-1,6-бисфосфатазы и глюкозо-6-фосфатазы, в результате чего активируется глюконеогенез. В период длительного голодания особое значение в стимуляции глюконеогенеза имеет стероидный гормон **кортизол**, который вызывает индукцию фермента глюконеогенеза — фосфоенолпируваткарбоксикиназы.

ТЕМА 6.10. РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ, ГИПЕРГЛЮКОЗЕМИЯ

1. Концентрация глюкозы в артериальной крови в течение суток поддерживается на постоянном уровне **80—100 мг/дл (3,3—5,5 ммоль/л)**. После приема углеводной пищи уровень глюкозы в крови возрастает в течение 0,5—1 ч до **120—140 мг/дл (7—8 ммоль/л) — алиментарная гиперглюкоземия**, затем (приблизительно через 2 часа) возвращается к нормальному уровню (рис. 6.28).

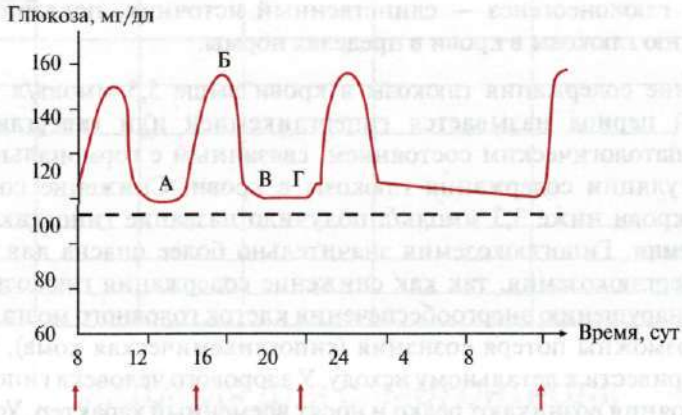


Рис. 6.28. Динамика изменений концентрации глюкозы в течение суток:

А–Б–В — период пищеварения (абсорбтивный период); В—Г — постабсорбтивный период.

Стрелка указывает время приема пищи; пунктирная линия — среднее значение концентрации глюкозы, соответствующее физиологической норме

В регуляции метаболизма глюкозы, связанной с режимом питания, участвуют гормоны инсулин и глюкагон.

2. После приема богатой углеводами пищи концентрация глюкозы в воротной вене повышается до 180—360 мг/дл (10—20 ммоль/л), возрастает инсулин/глюкагоновый индекс и поэтому возрастает скорость глюкокиназной реакции. Инсулин вызывает активацию фосфопротеинфосфатаз, дефосфорилируюих гликогенсинтазу, которая становится активной, и гликогенфосфорилазу, переходящую в неактивное состояние (ингибирующую). В результате в печени глюкозо-6-фосфат включается в **гликолиз**, удовлетворяя потребности клеток в энергии, и участвует в **синтезе гликогена** (гликогенез).

Повышение уровня инсулина увеличивает поступление глюкозы в мышцы и жировую ткань за счет ускорения транспорта глюкозы через клеточные мембраны путем перемещения белков — переносчиков ГЛЮТ-4 в плазматическую мембрану. Кроме того, инсулин стимулирует синтез гликогена в мышцах. Таким образом, поглощение глюкозы печенью, мышцами и жировой тканью приводит к восстановлению нормальной концентрации глюкозы в крови приблизительно через 2 часа после приема пищи.

3. В постабсорбтивный период концентрация глюкозы в крови понижается по сравнению с абсорбтивным периодом, значение инсулин/глюкагонового индекса падает. Концентрация глюкозы в крови в этих условиях поддерживается за счет процессов распада гликогена печени (**гликогенолиз**) и **глюконеогенеза**.

В течение 12-часового голодания гликоген печени является основным поставщиком глюкозы: глюкагон вызывает активацию гликогенфосфорилазы и мобилизацию гликогена.

Через сутки после последнего приема пищи гликоген печени полностью исчерпан и глюконеогенез — единственный источник, поддерживающий концентрацию глюкозы в крови в пределах нормы.

4. Повышение содержания глюкозы в крови выше 5,5 ммоль/л в постабсорбтивный период называется гипергликемией или **гиперглюкоземией** и является патологическим состоянием, связанным с гормональным нарушением регуляции содержания глюкозы в крови. Снижение содержания глюкозы в крови ниже 3,3 ммоль/л получило название гипогликемии или **гипоглюкоземии**. Гипоглюкоземия значительно более опасна для человека, нежели гиперглюкоземия, так как снижение содержания глюкозы в крови приводит к нарушению энергообеспечения клеток головного мозга, в результате чего возможны потеря сознания (гипогликемическая кома), судороги, что может привести к летальному исходу. У здорового человека гипогликемические состояния возникают редко и носят временный характер. Устойчивая гипогликемия развивается при инсуломе — опухоли из β-клеток поджелудочной железы, сопровождающейся гиперпродукцией инсулина, или у больных сахарным диабетом при передозировке инсулина.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Напишите схему процесса, обеспечивающего поддержание концентрации глюкозы в крови при голодании в пределах нормы. Для ответа:

— запишите формулами метаболический путь;
— укажите ферменты и коферменты процесса;
— отметьте реакции, протекающие с затратой макроэргических соединений.

2. В период пищеварения в гепатоцитах возрастает содержание фруктозо-2,6-бисфосфата. Объясните причину данного явления и роль этого вещества в регуляции углеводного обмена. Для ответа:

а) напишите схему образования и распада фруктозо-2,6-бисфосфата; укажите ферменты, катализирующие эти реакции;
б) составьте схему регуляции активности этих ферментов;
в) напишите схему процессов, в регуляции которых принимает участие фруктозо-2,6-бисфосфат; укажите аллостерические ферменты и их регуляторные лиганды.

3. Перенесите табл. 6.13 в тетрадь и заполните графы.

Таблица 6.13. Регуляторные ферменты гликолиза и глюконеогенеза в печени

Регуляторные ферменты	Аллостерическая регуляция		Фосфорилирование (дефосфорилирование)		Индукция (репрессия)	
	Активаторы	Ингибиторы	Активная форма фермента	Гормон, участвующий в регуляции	Гормон, участвующий в регуляции	Индукция или репрессия
Гликолиз						
1.						
2.						
3.						
Глюконеогенез						
1.						
2.						
3.						
4.						

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

Глюконеогенез протекает в органах:

А. Слизистая тонкого кишечника
Б. Мышцы
В. Печень
Г. Почки
Д. Эритроциты

2. Выберите правильный ответ.

На синтез 1 моль глюкозы из пирувата необходимо затратить:

А. 4 моль АТФ
Б. 2 моль ГТФ
В. 4 моль АТФ и 2 моль ГТФ
Г. 38 моль АТФ
Д. 8 моль АТФ

3. Выполните «цепное» задание:

а) при остром алкогольном отравлении отношение NADH—NAD^+ в клетках печени:

А. Увеличится
Б. Уменьшится
В. Не изменится

б) в результате этого концентрация лактата в клетках печени:

А. Уменьшится

Б. Увеличится

В. Не изменится

в) поэтому наблюдается:

А. Концентрация глюкозы в норме

Б. Гиперглюкоземия

В. Гипоглюкоземия

г) это обусловлено:

А. Снижением скорости глюконеогенеза

Б. Активацией глюконеогенеза

В. Уменьшением скорости гликолиза

4. Выберите правильный ответ.

В состоянии покоя спустя 6 часов после последнего приема пищи:

А. Основным источником глюкозы в крови является глюконеогенез

Б. Аденилатциклаза печени неактивна

В. Запас гликогена в печени полностью исчерпан

Г. Уровень глюкозы в крови поддерживается распадом гликогена мышц

Д. Уровень глюкозы в крови поддерживается распадом гликогена печени

5. Установите порядок событий.

При снижении инсулин/глюкагонового индекса в гепатоцитах происходит:

А. Активация аденилатциклазной системы

Б. Фосфорилирование БИФ и проявление его фосфатазной активности

В. Понижение концентрации фруктозо-2,6-бисфосфата

Г. Активация глюконеогенеза

Д. Взаимодействие глюкагона с рецептором

6. Установите соответствие.

Биохимические показатели обмена углеводов:

А. Концентрация глюкозы в артериальной крови 140 мг/дл

Б. Усилен синтез глюкозы из лактата

В. Концентрация глюкозы в артериальной крови 30 мг/дл

Г. Возрастает скорость глюконеогенеза из аминокислот и глицерола в печени

Д. Преобладает распад гликогена

Время после приема пищи:

1. Абсорбтивный период
2. Постабсорбтивный период
3. Период длительного голодания

7. Выберите правильные ответы.

Накопление молочной кислоты и развитие лактоацидоза может быть вызвано:

А. Поражением клеток печени (цирроз, токсические гепатиты)

Б. Нарушением работы ПДК вследствие дефектов в ферментом или гиповитаминозов

В. Активацией анаэробного гликолиза вследствие тканевой дистрофии

Г. Ускоренным превращением лактата в глюкозу путем глюконеогенеза

Д. Нарушением использования лактата из-за наследственных дефектов ферментов глюконеогенеза

8. Установите соответствие.

Особенность катализа:

А. Биотин-зависимый фермент

Б. NAD-зависимый фермент

В. FAD-зависимый фермент

Г. Для проявления ферментативной активности требуется ГТФ

Д. Катализирует реакцию субстратного фосфорилирования

Фермент:

1. Пируваткиназа
2. Пируваткарбоксилаза
3. Фосфоенолпируваткарбоксикиназа

9. Дополните предложение недостающими словами.

В интенсивно работающих мышцах при анаэробном гликолизе образуется _____, который поступает в кровь, а затем в печень. В печени отношение $NADH/NAD^+$_____, чем в сокращающейся мышце, поэтому лактатдегидрогеназная реакция протекает в сторону образования пирувата из_____. Продукт реакции включается в _____, а образовавшаяся глюкоза поступает в кровь и используется скелетными мышцами. Эту последовательность событий называют _____.

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. А, В, Г
2. В
3. А, Б, В, А
4. Д
5. Д, А,Б, В, Г
6. 1—А, 2—Д, 3—Г
7. А, Б, В, Д
8. 1—Д, 2—А, 3—Г
9. лактат; ниже; лактата; глюконеогенез; глюкозолактатный цикл (цикл Кори)

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Глюконеогенез
2. Субстраты глюконеогенеза
3. Регуляция глюконеогенеза
4. Глюкозолактатный цикл (цикл Кори)
5. Гиперглюкоземия (гипергликемия)
6. Гипоглюкоземия (гипогликемия)
7. Абсорбтивный период
8. Постабсорбтивный период
9. Инсулин/глюкагоновый индекс
10. Лактоацидоз

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ, ИЗУЧАЕМЫЕ В МОДУЛЬНОЙ ЕДИНИЦЕ

1. Концентрация глюкозы в крови в норме — 80—100 мг/дл (3,3—5,5 ммоль/л)
2. Алиментарная гиперглюкоземия: 120—140 мг/дл (7—8 ммоль/л)
3. Концентрация лактата в крови в состоянии покоя — 1 ммоль/л

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Два студента пришли сдавать кровь «на сахар» в поликлинику. Когда результаты анализов были готовы, выяснилось, что у первого студента концентрация глюкозы составляет 90 мг/дл, а у второго — 130 мг/дл. При обсуждении полученных показателей выяснилось, что второй студент утром выпил сладкий чай. Сделайте заключение о результатах анализов и ответьте на следующие вопросы:

а) чем обусловлена рекомендация, что количественное определение глюкозы в биохимических лабораториях проводят строго натощак?

б) какова концентрация глюкозы в крови в норме и в абсорбтивный период?

в) есть ли разница в содержании глюкозы в крови, взятой из вены или из капилляров пальца больного?

2. Бригада скорой помощи привезла в больницу человека с острой алкогольной интоксикацией. Для оказания помощи ему ввели раствор глюкозы и сукцината. Аргументируйте целесообразность проведения этих мероприятий. Для ответа:

а) напишите схему утилизации этанола в печени;

б) объясните, как чрезмерное употребление этанола повлияет на соотношение NADH—NAD^+ в гепатоцитах и как это изменение повлияет на направление ЛДГ-реакции в печени;

в) объясните, как сдвиг ЛДГ-реакции повлияет на энергетический обмен. Какую роль при этом будут играть введенные препараты глюкозы и сукцината?

3. В больницу доставлен человек без сознания с признаками алкогольного отравления. При лабораторном исследовании крови получены следующие данные:

- алкоголь — 320 мг/дл (норма — 5 мг/дл);
- глюкоза — 50 мг/дл;
- лактат — 2 ммоль/л (норма — 1 ммоль/л).

Назовите причины изменения концентрации глюкозы и лактата в крови при остром алкогольном отравлении. Приведите соответствующую реакцию и схему процесса, скорость которого снижена у этого человека.

4. Одним из субстратов глюконеогенеза при интенсивной физической нагрузке и голодании является глицерин, образующийся при распаде жиров в жировой ткани. Подсчитайте сколько моль глицерина и АТФ необходимо для синтеза 1 моль глюкозы.

Для ответа:

а) дополните схему синтеза глюкозы из глицерина необходимыми метаболитами и напишите первые две реакции формулами с указанием ферментов и коферментов:

Глицерол → Глицерол-3-фосфат → Дигидроксиацетонфосфат → **2** → **3** → **4** → **Глюкоза**
↕
1

б) на схеме укажите реакции, требующие затраты АТФ.

5. При длительном голодании основным субстратом глюконеогенеза являются аминокислоты. Подсчитайте, сколько молей глутамата необходимо для синтеза 1 моль глюкозы. Для этого:

а) предложенную схему превращения глутамата в α-кетоглутарат запишите формулами, назовите фермент, укажите энергетический выход:

$$\text{Глутамат} \xrightarrow{NAD^+ \rightarrow NADH} \alpha\text{-Кетоглутарат} + NH_3$$

б) напишите реакции образования оксалоацетата из α-кетоглутарата, рассчитайте энергетический выход, укажите судьбу оксалоацетата;

в) представьте схему глюконеогенеза, укажите ферменты всех необратимых реакций, а также ферменты, катализирующие реакции с потреблением энергии;

г) рассчитайте энергетический баланс использования глутамата в этом процессе (учтите, что на синтез 1 моль глюкозы требуется 2 моль субстрата).

6. При обследовании у ребенка обнаружены такие симптомы, как дерматит, замедленный рост, наблюдаются алопеция (от греч. *alopex* — лиса: выпадение волос, как у линяющей лисы), расстройство мышечной деятельности. Ребенок часто болел, что связано с ослаблением функции иммунной системы. Анализ мочи показал высокое содержание лактата. При биохимическом обследовании обнаружен дефицит фермента **синтетазы холокарбоксилазы**, который катализирует присоединение биотина к специфическому остатку лизина в активном центре ферментов. Почему при данном нарушении в моче обнаруживается лактат? Для ответа:

а) укажите, конечным продуктом какого метаболического пути является лактат; напишите реакцию его образования, назовите фермент и кофермент;

б) опишите пути использования лактата в тканях; на схемах укажите реакцию, скорость которой будет снижена вследствие дефицита фермента синтетазы холокарбоксилазы; напишите эту реакцию, назовите фермент и кофермент;

в) напишите схему процесса, который нарушен в клетках тканей больного ребенка; объясните роль этого процесса.

7. При опухоли β-клеток островков Лангерганса поджелудочной железы у больной наблюдается сверхутилизация глюкозы клетками тканей, что сопровождается развитием гипогликемического состояния. Какие процессы в печени активирует этот гормон? Для ответа:

а) укажите, гиперсекреция какого гормона стала причиной развития гипогликемического состояния, объясните механизм его действия на клетки-мишени;

б) напишите схемы процессов, скорость которых регулирует этот гормон в печени;

в) приведите схемы регуляции этих процессов.

Модуль 7

БИОХИМИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Темы модуля
7.1. Коллаген
7.2. Эластин
7.3. Гетерополисахариды межклеточного матрикса
7.4. Неколлагеновые структурные белки межклеточного матрикса
7.5. Структурная организация межклеточного матрикса (суставной хрящ, базальные мембраны, субэпителиальные слои)

Цели изучения

Уметь:

1. Интерпретировать роль важнейших макромолекул (белков и полисахаридов) в структурной организации межклеточного матрикса.
2. Давать объяснение клиническим проявлениям недостаточности витамина С.
3. Анализировать результаты лабораторных исследований на содержание оксипролина и пиридинолинов в физиологических жидкостях, используемых для диагностики онкологических заболеваний и коллагенозов.
4. Объяснять молекулярные механизмы, лежащие в основе нарушений структуры и функций межклеточного матрикса, которые приводят к возникновению ряда заболеваний соединительной ткани.

Знать:

1. Основные белки межклеточного матрикса (коллаген и эластин): особенности аминокислотного состава, первичной и пространственной структуры.
2. Строение и функции гликозаминогликанов и протеогликанов, их роль в организации межклеточного матрикса.
3. Адгезивные белки межклеточного матрикса, их роль в межклеточных взаимодействиях и развитии опухолей.

Межклеточный матрикс — это структурированный и упорядоченный комплекс макромолекул, который окружает клетки соединительной ткани и влияет на их развитие, организацию, пролиферацию и метаболизм. Он выполняет ряд важных функций: образует соединительную основу органов и тканей, связывает клетки друг с другом, обеспечивает механическую прочность и тургор тканей, образует высокоспециализированные структуры — базальные мембраны, кости, хрящи, сухожилия и др. Основными компонентами матрикса являются: структурные белки коллаген и эластин, гликозаминогликаны, протеогликаны, а также неколлагеновые белки фибронектин, ламинин, тенасцин, остеонектин и др.

ТЕМА 7.1. КОЛЛАГЕН

1. Коллаген — основной структурный белок межклеточного матрикса. Он синтезируется клетками соединительной ткани (остеобластами, хондробластами, фибробластами и др.). Это фибриллярный белок, отличающийся от других белков рядом особенностей состава и структуры:

- пептидная цепь коллагена содержит около 1000 аминокислотных остатков, из которых каждая третья аминокислота — глицин, 20% составляют пролин и гидроксипролин, 10% — аланин, оставшиеся 40% — другие аминокислоты; в коллагене отсутствуют цистеин и триптофан и содержится очень мало гистидина, метионина и тирозина;
- первичную структуру коллагена можно записать в виде **[Гли-Х-У** $]_{333}$, где **Х** — часто пролин, а **У** — гидроксипролин; особенности первичной структуры обеспечивают уникальную конформацию коллагена;
- полипептидная цепь коллагена укладывается в левозакрученную α-спираль, которая отличается от α-спирали глобулярных белков; она более развернута, и на один виток приходится три аминокислотных остатка, поэтому в цепи глицин всегда находится над глицином — это обстоятельство имеет важнейшее значение для последующей укладки коллагена и выполнения его функций; стабилизация этой цепи происходит преимущественно силами стерического отталкивания пирролидоновых колец пролина, так как водородных связей пролин и гидроксипролин не образуют;
- следующий уровень структурной организации коллагена — образование правозакрученной суперспирали из трех α-цепей, при формировании которой остатки глицина оказываются по ее центральной оси, что способствует образованию линейной молекулы тропоколлагена и включению ее в волокно.

2. Синтез и созревание коллагена — сложный многоэтапный процесс, который начинается в клетке, а завершается во внеклеточном пространстве (рис. 7.1). Он включает в себя целый ряд посттрансляционных изменений: гидроксилирование пролина и лизина, гликозилирование гидроксилизина, образование тройной спирали, отщепление N- и C-концевых пептидов.

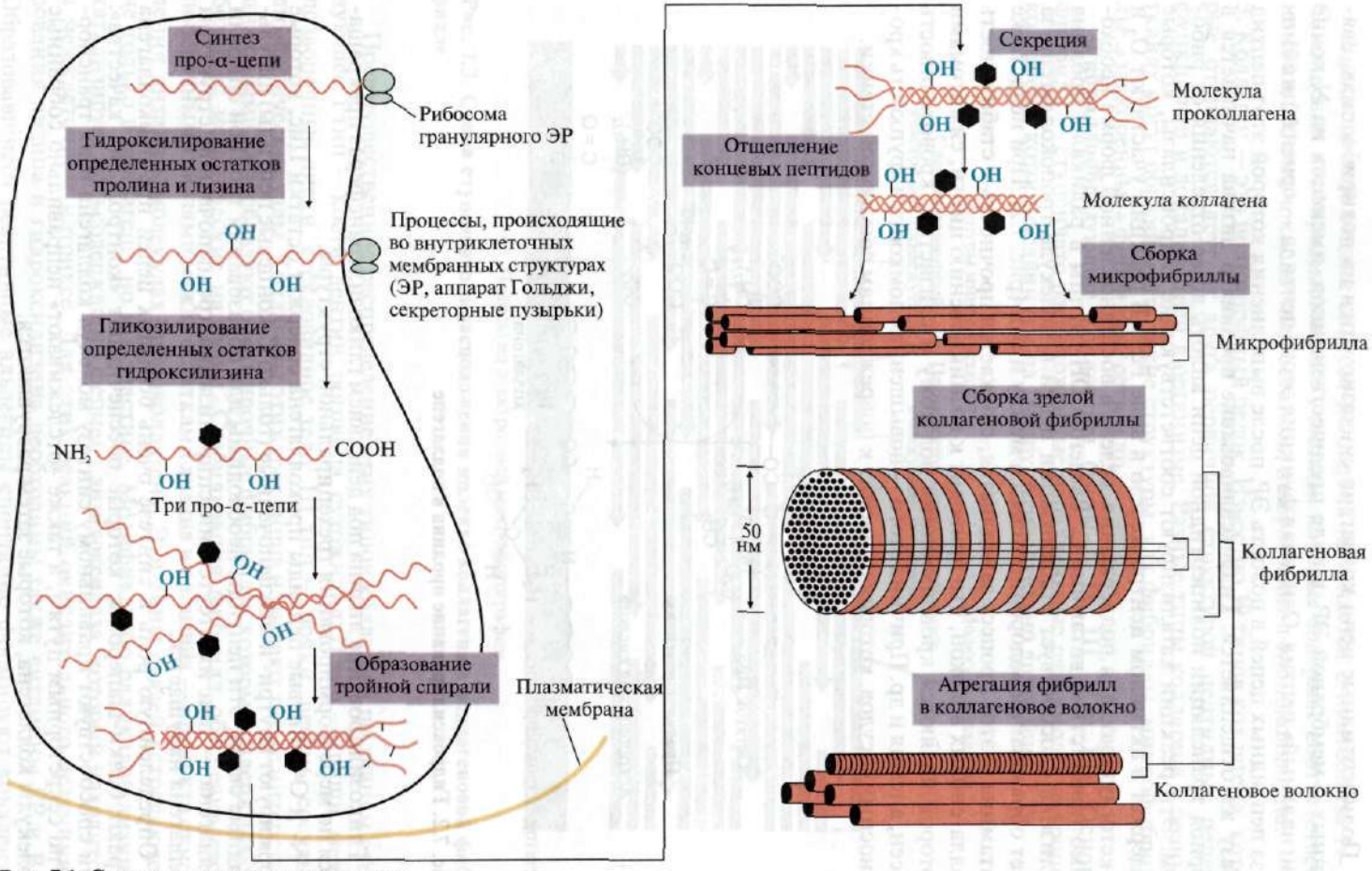


Рис. 7.1. Синтез и созревание коллагена

Полипептидные цепи коллагена синтезируются на полирибосомах, связанных с мембраной ЭР, в виде предшественников, имеющих на N-конце «сигнальный» пептид. Основная функция этого пептида — ориентация синтеза пептидных цепей в полость ЭР, после выполнения которой этот пептид сразу же отщепляется. **Гидроксилирование пролина** и **лизина** начинается в период трансляции полипептидной цепи вплоть до ее отделения от рибосом. Эти реакции катализируют соответствующие гидроксилазы, которые содержат в активном центре железо в виде Fe^{2+}. В реакции участвуют O_2 и α-кетоглутарат, для поддержания железа в восстановленной форме необходимо присутствие витамина С. Введение ОН-группы в радикалы пролина и лизина способствует стабилизации цепей в молекуле тропоколлагена за счет образования водородных связей между ними (рис. 7.2). При недостатке витамина С этот процесс замедляется, снижается прочность и стабильность коллагеновых волокон, что приводит к возникновению цинги, симптомами которой являются кровоизлияния под кожу и слизистые, кровоточивость десен, анемия и др. Причина этого — повышенная ломкость и хрупкость кровеносных сосудов, которая приводит к повреждениям сосудистой стенки.

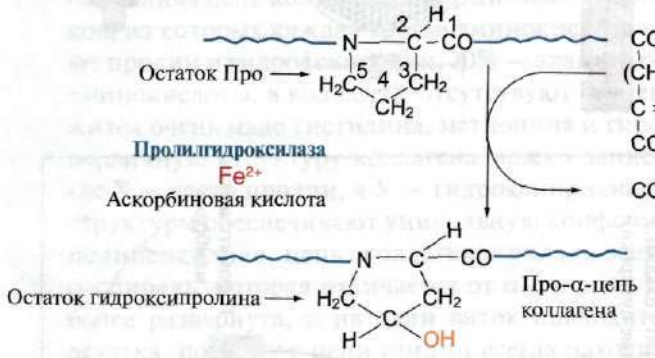


Рис. 7.2. Гидроксилирование пролина в коллагене

Гликозилирование лизина под действием гликозилтрансфераз прекращается по мере формирования трехспиральной структуры.

N- и С-концевые пептиды проколлагена содержат остатки Цис, которые формируют внутри- и межцепочечные (только С-концевые пептиды) дисульфидные связи; эти пептиды необходимы для образования тройной спирали коллагена — при их отсутствии спирализация трехцепочечной структуры коллагена нарушается.

Определенную роль в синтезе очень больших цепей пре-проколлагена играют белки-шапероны, которые обеспечивают «контроль их качества»: они способствуют правильному синтезу молекул коллагена и их транспорту по секреторным путям, а также «отслеживают» неправильно собранные молекулы коллагена, которые затем разрушаются.

Внеклеточная стадия синтеза коллагена начинается с протеолиза N- и С-концевых неспирализованных участков, которые содержат соответственно 100 и 250 аминокислотных остатков, и образования тропоколлагена.

3. Коллаген — это полиморфный белок. Известно 19 типов коллагена, которые отличаются друг от друга первичной структурой пептидных цепей, функциями и локализацией в организме. Разные типы коллагена в разных тканях могут образовывать такие структуры, как фибриллы, микрофибриллы, «заякоренные» фибриллы, сети и др.

Фибриллообразующие коллагены (типы I, II, III, V и XI). Основа фибрилл — ступенчато расположенные параллельные ряды молекул тропоколлагена, которые сдвинуты на 1/4 друг относительно друга (рис. 7.3).

Рис. 7.3. Схема ступенчатого расположения молекул коллагена в коллагеновой фибрилле

Преимущественное распределение этих типов коллагена по тканям следующее: I тип — кости, дентин, роговица, сухожилия; II тип — хрящи, межпозвоночные диски, стекловидное тело; III тип — почки, печень, сосуды, лимфатические узлы. Коллагены этих трех типов называют также интерстициальными, они образуют очень прочные фибриллы, которые выдерживают большие механические нагрузки. Стабилизация фибрилл обеспечивается поперечными связями между остатками **лизина** и **аллизина** — продукта окисления лизина в молекулах тропоколлагена. Эти типы связей встречаются не только в коллагене, но и в эластине. Модификацию радикалов лизина катализирует медьсодержащий фермент **лизилоксидаза**, который находится в межклеточном матриксе. Для этих реакций окислительного дезаминирования лизина и гидроксилизина необходимы также витамины PP и B_6. Образовавшиеся реактивные альдегиды спонтанно формируют ковалент-

ные связи между собой, а также с другими остатками лизина или гидроксилизина соседних молекул, и в результате возникают поперечные Лиз–Лиз-сшивки (рис. 7.4).

Кроме этих сшивок, между молекулами коллагена могут возникать перекрестные **пиридиновые связи**, в результате которых образуются пиридинолины (кости и хрящи) и дезоксипиридинолины (кости и дентин), что также способствует повышению прочности этих тканей. Эти структуры имеют важное значение в диагностике: при метастазах рака легких, простаты и молочной железы в кости они определяются в моче.

Коллаген IV типа — структурный компонент базальных мембран — относится к сетеобразующим коллагенам. Особенностью этого коллагена является то, что повторяющиеся спирализованные участки с последовательностями **[Гли-Х-У]** часто прерываются короткими неспиральными сегментами,

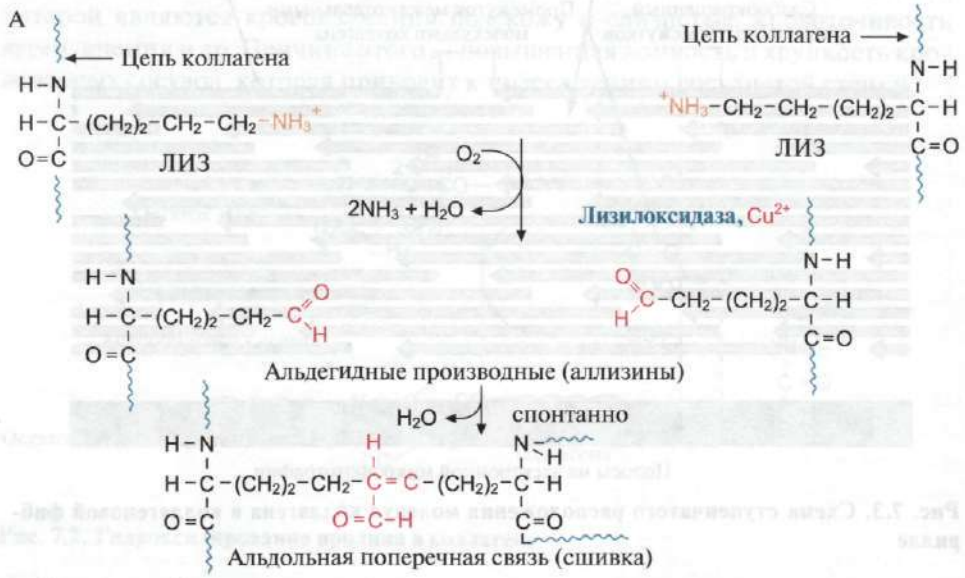


Рис. 7.4. Образование поперечных связей в коллагене:

А — образование альдольной поперечной сшивки из двух боковых цепей лизина; Б — образование шиффовых оснований из боковых цепей лизина и аллизина

что, по-видимому, увеличивает гибкость коллагена IV типа и способствует формированию на его основе сетчатых структур. У коллагена IV типа N- и С-концевые пептиды не отщепляются. Именно эти фрагменты участвуют в образовании олигомерных форм коллагена, стабилизированных дисульфидными мостиками и поперечными лизиновыми связями. В базальной мембране из этих компонентов формируется сетчатая структура (рис. 7.5).

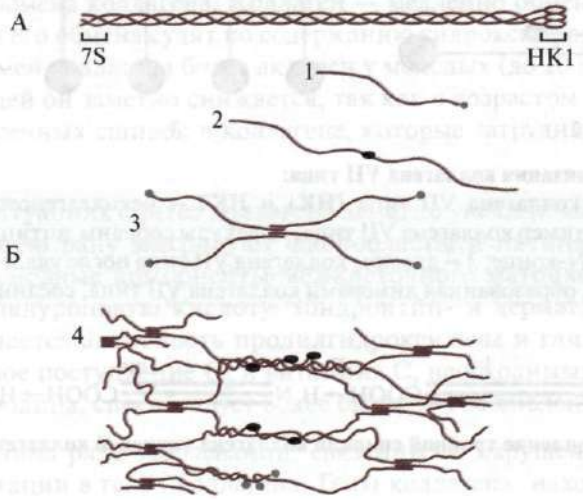


Рис. 7.5. Организация коллагена IV типа:
А – тройная спираль мономера; 7S – N-конец; НК1 – С-конец; Б – полимеризация коллагена IV типа: 1 – мономер; 2 – димеры, образованные соединением мономеров в области НК1-доменов; 3 – тетрамеры, образованные соединением мономеров в области 7S-сегментов в параллельном и антипараллельном направлениях; 4 – образование сетчатой структуры из олигомерных форм коллагена IV типа

Коллаген VII типа — основной структурный компонент «заякоренных» фибрилл, которые находятся преимущественно в субэпителиальных слоях. Фибриллы образуются димерами этого коллагена, которые соединяются между собой «бок-в-бок» (рис. 7.6). Пучки таких фибрилл участвуют в присоединении эпидермиса к дерме.

4. Катаболизм коллагена. Нативный коллаген гидролизуется ферментом **коллагеназой**, матриксной металлопротеиназой (ММР-1), которая расщепляет молекулу на два фрагмента (1/4 и 3/4 от общей длины молекулы) (рис. 7.7).

После этого трехцепочечные фрагменты подвергаются протеолизу лизосомальными протеазами. Коллагеназа относится к группе Zn^{2+}-зависимых протеолитических ферментов межклеточного матрикса, которые секретируются разными типами клеток и участвуют в деградации не только коллагена, но и ламинина, фибронектина и других структурных белков матрикса. Ион

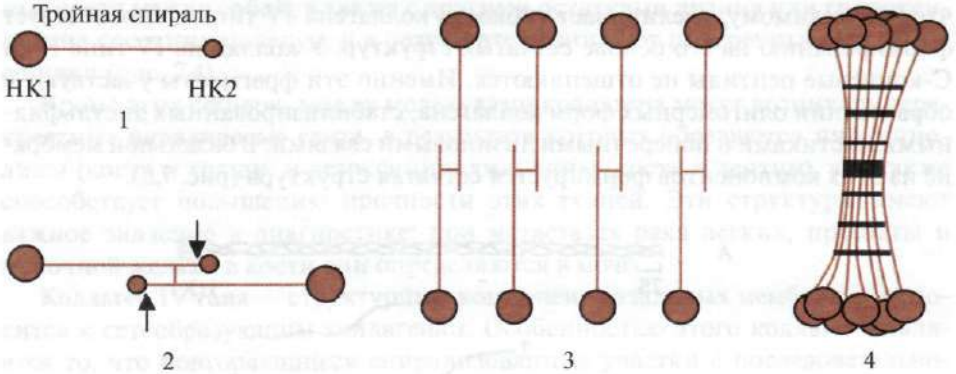


Рис. 7.6. Организация коллагена VII типа:
1 – мономер коллагена VII типа (НК1 и НК2 – неколлагеновые домены у N- и С-конца); 2 – димер коллагена VII типа, молекулы собраны антипараллельно с перекрытиями на N-конце; 3 – димеры коллагена VII типа после удаления НК2-доменов; 4 – фибрилла, образованная димерами коллагена VII типа, соединенными бок в бок

Рис. 7.7. Расщепление тройной спирали коллагена тканевой коллагеназой

цинка находится в активном центре этих ферментов. В обычных условиях металлопротеиназы (ММР) содержатся в тканях в незначительных количествах. Они относятся к индуцируемым ферментам, синтез которых контролируется на уровне транскрипции рядом регуляторных молекул: цитокинами, эстрогеном, прогестероном и др.

Небольшое количество ММР присутствует в матриксе в неактивной форме, так как ингибировано специфическим тканевым ингибитором матриксных металлопротеиназ (TIMP). Это белки небольшого размера, способные формировать комплексы со многими членами семейства матриксных протеиназ. TIMP может взаимодействовать с активной и неактивной формами ММР.

Частичный протеолиз и активацию большинства ММР осуществляют протеазы: плазмин, урокиназа и др. Некоторые ММР могут активировать друг друга. Ингибиторы ММР могут быть инактивированы (разрушены протеолизом) с помощью ряда протеиназ: трипсина, химотрипсина, стромелизина-3 и эластазы нейтрофилов. В норме металлопротеиназы отвечают за важнейшие процессы — от эмбрионального развития до формирования иммунного ответа.

Металлопротеиназы играют ключевую роль в развитии многих патологий. Например, избыточная активность этих ферментов ведет к разрушению гематоэнцефалического барьера, деструкции суставного хряща при ревматоидном артрите и остеоартрите, развитию сердечно-сосудистых

патологий, связанных с уменьшением эластичности сосудов. При недостаточной активности металлопротеиназ развивается фиброз тканей и неадекватный иммунный ответ.

Некоторые виды патогенных бактерий способны вырабатывать коллагеназу, обладающую высокой активностью, что способствует их инвазии в ткани и распространению патологического процесса.

5. Особенности обмена коллагена. Коллаген — медленно обменивающийся белок, о скорости его обмена судят по содержанию гидроксипролина (Нур) в крови и моче. Обмен коллагена более активен у молодых (до 20 лет), у пожилых и старых людей он заметно снижается, так как с возрастом повышается количество поперечных сшивок в коллагене, которые затрудняют действие коллагеназы.

6. В некоторых ситуациях синтез коллагена заметно увеличивается: например, в заживающую рану мигрируют фибробласты и начинают активно синтезировать основные компоненты межклеточного матрикса: коллаген (I и III типа), гиалуроновую кислоту, хондроитин- и дерматансульфаты. При этом повышается активность пролилгидроксилазы и гликозилтрансфераз. Достаточное поступление O_2 и витамина С, необходимых для гидроксилирования пролина, способствует более быстрому заживлению ран.

7. Основная причина ряда заболеваний, связанных с нарушением синтеза коллагена, — мутации в генах коллагена. Гены коллагена находятся в разных хромосомах, они очень большие, имеют много коротких экзонов, между которыми располагаются протяженные интроны. Молекула коллагена имеет самую длинную полипептидную цепь (1000 аминокислот), образованию которой предшествует многоэтапный сплайсинг мРНК; следовательно, ген, кодирующий препро-α-цепь, занимает большой участок ДНК, что увеличивает вероятность мутаций.

Примеры некоторых наследственных болезней, связанных с дефектами разных типов коллагена:

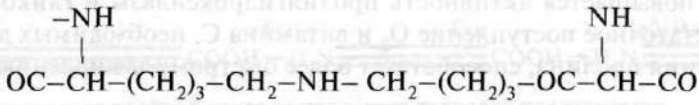
- I тип — несовершенный остеогенез, сопровождающийся повышенной ломкостью костей, аномалиями зубов, гиперподвижностью суставов;
- II тип — а) хондродисплазии (около 40); б) синдром Стиклера и Вагнера — нарушение синтеза коллагена в стекловидном теле, осложняющееся отслойкой сетчатки;
- III тип — а) синдром Элерса—Данлоса с поражением кожи, сосудов, толстого кишечника; б) семейная аневризма аорты; в) прогрессирующая миопия;
- IV тип — синдром Альпорта с нарушением фильтрационной функции почек;
- VII тип — буллезный эпидермолиз, сопровождающийся образованием на коже пузырей, которые легко травмируются и эрозируются;
- IX тип — множественная эпифизальная дисплазия.

ТЕМА 7.2. ЭЛАСТИН

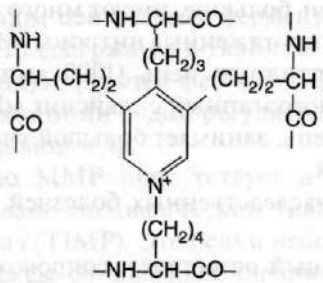
Эластин — это основной структурный компонент волокон, которые содержатся в тканях, обладающих значительной эластичностью (кровеносные сосуды, связки, легкие). Для этих тканей характерна высокая растяжимость при нагрузке и быстрое восстановление исходной формы и размера после ее снятия.

Эластин — гликопротеин с молекулярной массой 70 000 Да, он содержит около 800 аминокислотных остатков; 70% составляют гидрофобные аминокислоты с небольшими радикалами (Гли, Вал, Ала, Лей, Про), гидроксипролина мало, гидроксилизина нет, нет также цистеина, метионина и триптофана. В отличие от большинства белков пептидные цепи эластина не приобретают характерную третичную структуру, а сохраняют гибкую случайную конформацию.

В межклеточном матриксе из молекул эластина формируются волокна, сети, слои, в которых отдельные молекулы связаны множеством сшивок. При этом образуются такие структуры, как лизиннорлейцин и десмозин.



Лизиннорлейцин (образован двумя остатками Лиз)



Десмозин (образован четырьмя остатками Лиз)

Образованию этих структур предшествует посттрансляционная модификация остатков лизина. Медьсодержащая лизилоксидаза катализирует образование радикалов аллизина (реактивных альдегидов), которые участвуют в формировании десмозина (см. рис. 7.4). Образованная структура похожа на пиридиновое кольцо, очень прочное и не подвергающееся даже кислотному гидролизу. Структура десмозина связывает между собой две, три или четыре молекулы эластина.

Наличие гибкой случайной конформации молекул эластина и большого количества поперечных сшивок (десмозина и норлейцина) позволяют эластическим волокнам проявлять свои резиноподобные свойства (рис. 7.8).

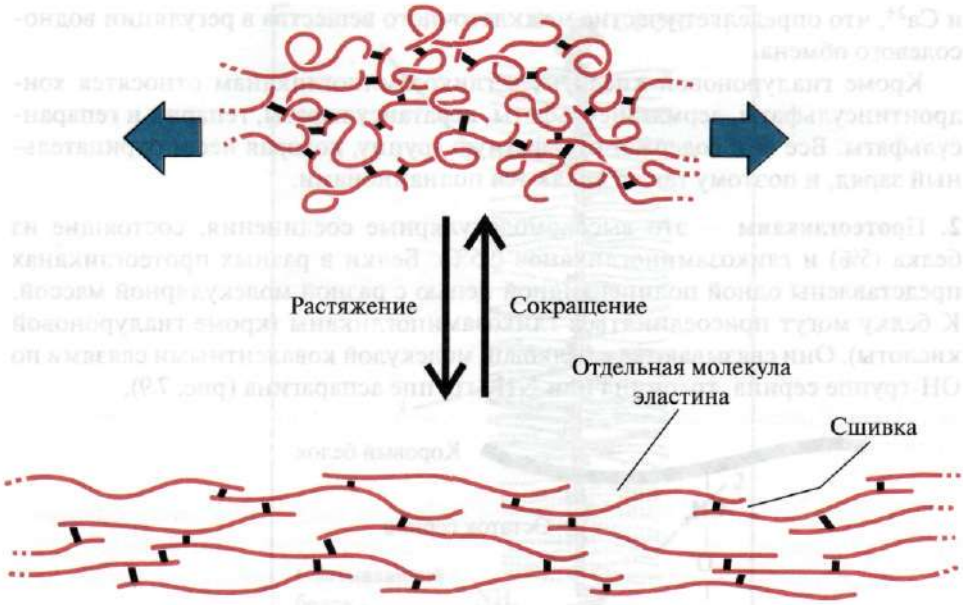


Рис. 7.8. Молекулы эластина связаны ковалентными сшивками в обширную сеть

Нарушения образования десмозина, вызванные дефектами ферментов или нарушениями всасывания меди, проявляются серьезной патологией со стороны сердца, легких, сосудов (дефекты сердечных клапанов, аневризмы аорты, варикозная болезнь, эмфизема легких).

ТЕМА 7.3. ГЕТЕРОПОЛИСАХАРИДЫ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

1. Гликозаминогликаны — это линейные отрицательно заряженные гетерополисахариды, которые содержат в своем составе повторяющиеся дисахаридные единицы: гексуронувую кислоту (глюкуроновую или идуроновую) и производное аминосахара (глюкоз- или галактозамина). Самый крупный гликозаминогликан межклеточного вещества — **гиалуроновая кислота**, ее молекулярная масса достигает 10^5—10^7 Да. Гиалуроновая кислота построена из глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина. В каждом дисахариде имеется отрицательно заряженная карбоксильная группа, а поскольку таких мономеров в молекуле гиалуроновой кислоты очень много, она является полианионом. Благодаря своим полианионным свойствам, гиалуроновая кислота связывает большие количества воды, и в результате этого межклеточное вещество приобретает характер желеобразного матрикса. Гиалуроновая кислота (как и все гликозаминогликаны) способна связывать ионы Na^+

и Ca^{2+}, что определяет участие межклеточного вещества в регуляции водно-солевого обмена.

Кроме гиалуроновой кислоты, к гликозаминогликанам относятся хондроитинсульфаты, дерматансульфаты, кератансульфаты, гепарин и гепарансульфаты. Все они содержат сульфатную группу, которая несет отрицательный заряд, и поэтому также являются полианионами.

2. Протеогликаны — это высокомолекулярные соединения, состоящие из белка (5%) и гликозаминогликанов (95%). Белки в разных протеогликанах представлены одной полипептидной цепью с разной молекулярной массой. К белку могут присоединяться гликозаминогликаны (кроме гиалуроновой кислоты). Они связываются с белковой молекулой ковалентными связями по ОН-группе серина, треонина или NH_2-группе аспарагина (рис. 7.9).

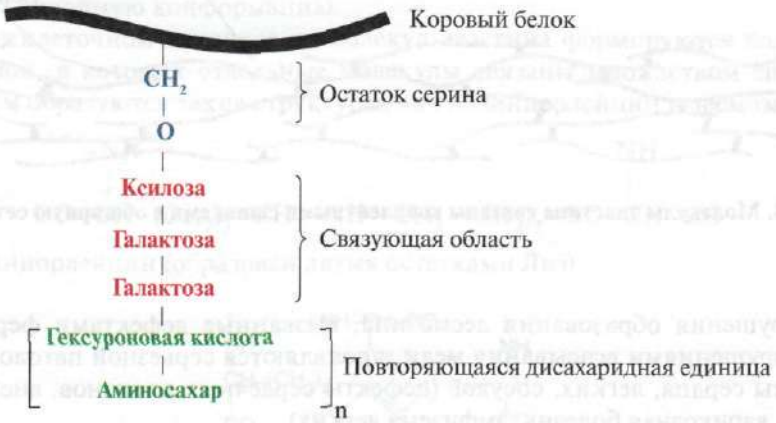


Рис. 7.9. Гликозаминогликан, связанный с ОН-группой серина корового белка

Структура и физико-химические свойства гликозаминогликанов и протеогликанов позволяют им выполнять в организме разнообразные функции, например:

- взаимодействовать со всеми структурными компонентами межклеточного матрикса;
- связывать молекулы, катионы и способствовать формированию тургора различных тканей;
- играть роль молекулярного сита, препятствовать распространению патогенных микроорганизмов;
- выполнять рессорную функцию в хрящах;
- способствовать созданию фильтрационного барьера в почках и др.

В хрящевом матриксе основной протеогликан — **агрекан** — присоединяется к гиалуроновой кислоте с помощью ко́рового белка (Мм≈220 кДа), имеющего три глобулярных домена: G_1, G_2, G_3 (рис. 7.10). Между доменами G_2 и G_3 находятся области, в которых к нему присоединяются кератансульфаты (≈30 цепей) и хондроитинсульфаты (≈100 цепей). В межклеточном матриксе

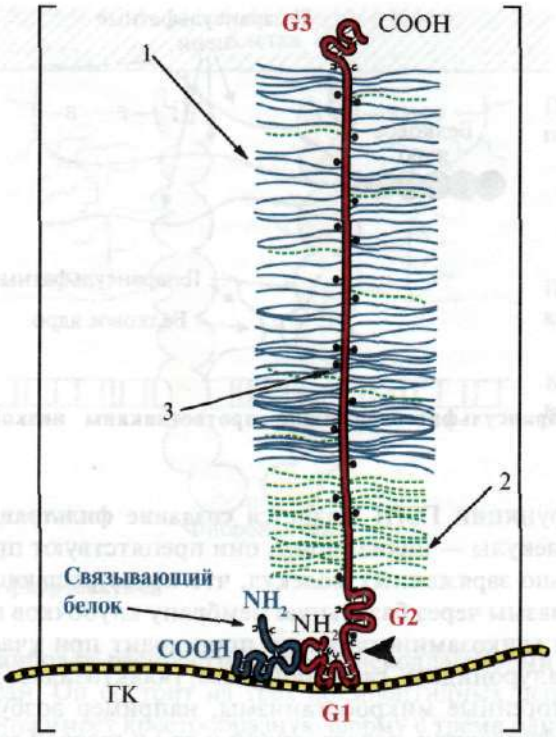


Рис. 7.10. Строение агрекана:
1 – хондроитинсульфат; 2 – кератансульфат; 3 – коровый белок; ГК – гиалуроновая кислота

агрекан взаимодействует с гиалуроновой кислотой и небольшим связывающим белком. Конечный агрегат с молекулярной массой более $200 \cdot 10^6$ Да состоит из одной молекулы гиалуроновой кислоты и ≈100 молекул агрекана (и такого же количества связывающего белка).

Больше всего протеогликанов содержится в межклеточном веществе хрящей, межпозвоночных дисков, сухожилий, связок, менисков, кожи, т.е. в тех анатомических структурах, которые подвергаются выраженной механической нагрузке и деформации. В хрящах суставных поверхностей протеогликаны выполняют рессорную функцию, т.е. смягчают и гасят резкие перемены нагрузки.

Основными протеогликанами базальных мембран являются **гепарансульфатсодержащие протеогликаны** (ГСПГ). Это гетерогенные молекулы, представленные в основном двумя разновидностями — с низкой плотностью и высокой плотностью. ГСПГ низкой плотности имеют большое многодоменное белковое ядро и три длинные гепарансульфатные цепи (рис. 7.11, А).

ГСПГ высокой плотности состоят из четырех коротких гепарансульфатных цепей, связанных с небольшим белковым ядром (рис. 7.11, Б).

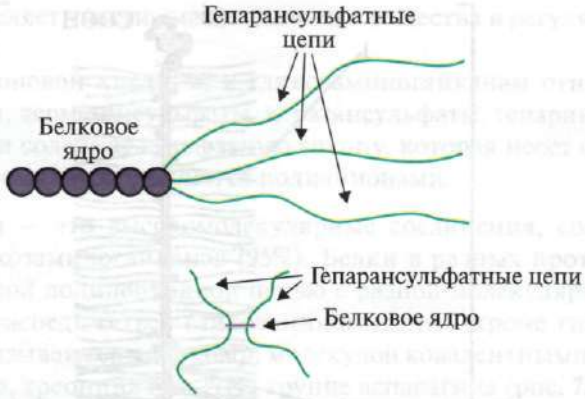


Рис. 7.11. Гепарансульфатсодержащие протеогликаны низкой (А) и высокой (Б) плотности

Одной из функций ГСПГ является **создание фильтрационного барьера**, так как эти молекулы — полианионы, они препятствуют прохождению других отрицательно заряженных молекул, что имеет решающее значение при фильтрации плазмы через базальную мембрану клубочков почек.

Катаболизм гликозаминогликанов происходит при участии таких ферментов, как гиалуронидаза, глюкуронидаза, галактозидаза, сульфатаза и др. Некоторые патогенные микроорганизмы, например возбудители гнойных инфекций (стафилококки, стрептококки и др.) и газовой гангрены, выделяют гиалуронидазу, которая способствует распространению инфекционного процесса.

ТЕМА 7.4. НЕКОЛЛАГЕНОВЫЕ СТРУКТУРНЫЕ БЕЛКИ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Неколлагеновые структурные белки межклеточного матрикса: фибронектин, ламинин, нидоген.

1. Фибронектин — это неколлагеновый структурный гликопротеин, который синтезируется и выделяется в межклеточное пространство многими клетками. Он построен из двух полипептидных цепей, соединенных дисульфидными мостиками (рис. 7.12).

Каждая цепь фибронектина содержит 7—8 доменов, на которых расположены специфические центры для связывания многих веществ. Фибронектин может связывать коллаген, протеогликаны, гиалуроновую кислоту, углеводы плазматических мембран, фермент трансглутаминазу. Структура фибронектина позволяет ему выполнять интегрирующую роль в организации межклеточного вещества, а также способствовать адгезии клеток. Метастазирование злокачественных клеток возможно, в частности, потому, что на их поверхности снижается количество фибронектина и они менее прочно связаны между собой.

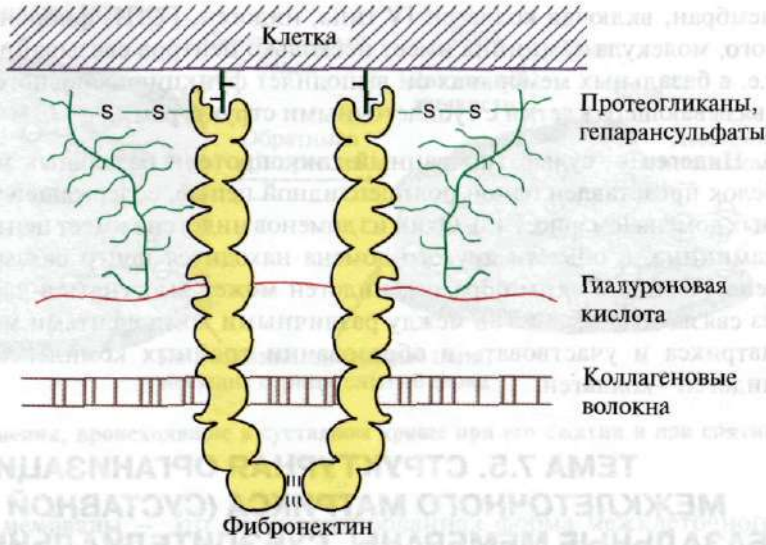


Рис. 7.12. Строение фибронектина

2. Ламинин — наиболее распространенный неколлагеновый гликопротеин базальных мембран. Он состоит из трех полипептидных цепей: A, B_1 и B_2. Молекула ламинина имеет крестообразную форму с тремя одноцепочечными ветвями и одной трехцепочечной ветвью (рис. 7.13). Каждая цепь ламинина содержит несколько глобулярных и стержневидных доменов, на которых имеются специфические центры, способные связывать различные вещества. Ламинин взаимодействует со всеми структурными компонентами базальных

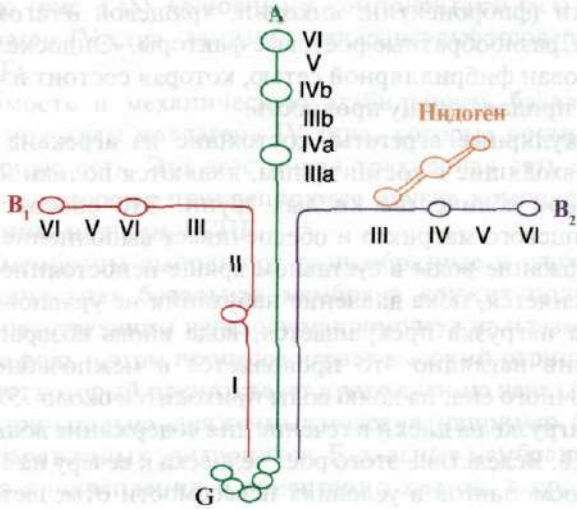


Рис. 7.13. Строение комплекса ламинин—нидоген

мембран, включая коллаген IV типа, нидоген, ГСПГ, фибронектин. Кроме того, молекула ламинина имеет несколько центров связывания с клетками, т.е. в базальных мембранах он выполняет функцию основного компонента, связывающего клетки с субклеточными структурами.

3. Нидоген — сульфатированный гликопротеин базальных мембран. Этот белок представлен одной полипептидной цепью, содержащей три глобулярных домена (см. рис. 7.13). Один из доменов нидогена имеет центр связывания ламинина, в области другого домена находится центр связывания коллагена IV типа. Таким образом, нидоген может выступать в качестве одного из связывающих мостов между различными компонентами межклеточного матрикса и участвовать в образовании тройных комплексов ламинин—нидоген—коллаген.

ТЕМА 7.5. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА (СУСТАВНОЙ ХРЯЩ, БАЗАЛЬНЫЕ МЕМБРАНЫ, СУБЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ СЛОИ)

Межклеточный матрикс образует такие высокоспециализированные структуры, как хрящ, сухожилия, базальные мембраны, кости и зубы. Эти структуры различаются между собой как по молекулярному составу, так и по способам организации основных компонентов (белков и полисахаридов) в различных формах межклеточного матрикса.

1. Организация межклеточного матрикса в суставном хряще. Основные компоненты межклеточного хрящевого матрикса — коллаген II типа, агрекан, гиалуроновая кислота и вода. Кроме них в матриксе находятся малые протеогликаны, коллагены VI, IX, XI типов, связывающий белок, другие неколлагеновые белки (фибронектин, анкорин, хрящевой олигомерный белок, хондроадгерин), разнообразные ростовые факторы. «Эндоскелет» хрящевого матрикса образован фибриллярной сетью, которая состоит из коллагенов II, IX и XI типов и придает хрящу прочность.

Высокомолекулярные агрегаты, состоящие из агрекана и гиалуроновой кислоты и входящие в состав хряща, являются полианионами, так как содержат большое количество кислых групп. Это способствует высокой гидратации хрящевого матрикса и обеспечивает выполнение им рессорных функций. Содержание воды в суставном хряще непостоянно: при нагрузке жидкость вытесняется, пока давление набухания не уравновесит внешнюю нагрузку. Когда нагрузка прекращается, вода вновь возвращается в хрящ (рис. 7.14). Очень наглядно это проявляется в межпозвоночных дисках. Утром, после ночного сна, на долю воды приходится около 75% массы диска. При внешней нагрузке на диски в течение дня содержание воды уменьшается примерно на 20%. Вследствие этого рост человека к вечеру на 1—2 см меньше, чем утром. У космонавтов в условиях невесомости отмечается увеличение роста даже на 5 см.

Рис. 7.14. Изменения, происходящие в суставном хряще при его сжатии и при снятии нагрузки

2. Базальные мембраны — это специализированная форма межклеточного матрикса. Они синтезируются различными клетками: эндотелиальными, эпителиальными, мышечными, нервными, жировыми. Базальные мембраны представляют собой тонкие слои, которые обычно отделяют клетки и клеточные слои от окружающей соединительной ткани. Например, они окружают отдельные мышечные волокна, жировые и шванновские клетки. А в таких структурах, как почечные клубочки и легочные альвеолы, базальные мембраны расположены между двумя различными слоями клеток и играют роль высокоселективного фильтрационного барьера.

С помощью электронной микроскопии выявлена двухслойная структура базальных мембран: 1) *lamina rara*, которая находится со стороны клеточной мембраны и 2) *lamina densa*, которая соединена с подлежащей соединительной тканью (рис. 7.15). Основными компонентами базальных мембран являются коллаген IV типа, ламинин, гепарансульфатсодержащие протеогликаны (ГСПГ).

Нерастворимость и механическую стабильность базальных мембран обеспечивают молекулы коллагена IV типа, которые организуются в специальную опорную сеть. Эта эластичная трехмерная сеть образует структурный остов, к которому прикрепляются другие компоненты базальных мембран: ламинин, нидоген, ГСПГ.

Базальные мембраны выполняют разнообразные и сложные функции. В почечных канальцах базальная мембрана служит полупроницаемым фильтром, препятствующим переходу макромолеул из плазмы в первичную мочу. Большую роль в этом процессе играет высокий отрицательный заряд протеогликанов, который препятствует прохождению через базальную мембрану других отрицательно заряженных молекул (например, белков), а также отрицательно заряженных эритроцитов. Базальные мембраны играют также важную роль в прикреплении и ориентации клеток, в процессах эмбрионального развития и тканевой регенерации.

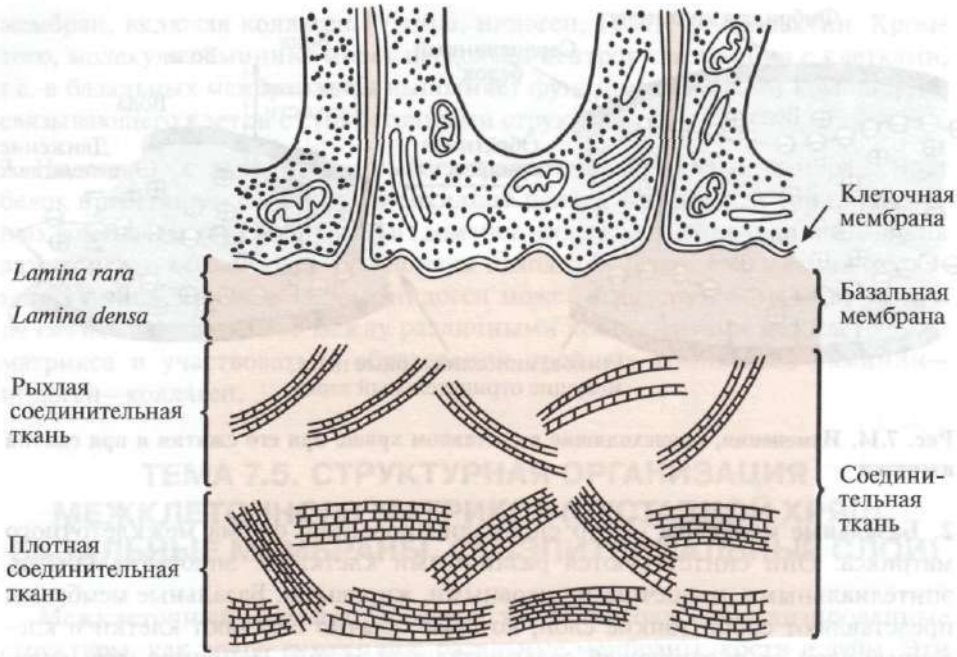


Рис. 7.15. Строение типичной базальной мембраны

3. Организация межклеточного вещества в субэпителиальных слоях. Основным организующим компонентом является коллаген VII типа. Пучки фибрилл, образованные димерами этого коллагена, своими С-концами могут присоединяться к *lamina densa* базальной мембраны (как бы «заякориваться» в ней) и образовывать петли в субэпидермисе. Такие «заякоренные» фибриллы могут соединять *lamina densa* базальной мембраны с «якорными дисками», которые находятся в более глубоких субэпителиальных слоях и по своему составу похожи на базальные мембраны (содержат коллаген IV типа). «Заякоренные» фибриллы также связываются с фибриллами коллагена I и III типов (рис. 7.16) и обеспечивают присоединение эпидермиса к дерме.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Известно, что коллагеновое волокно отличается очень высокой прочностью: волокно диаметром в 1 мм выдерживает нагрузку в 10 кг. Объясните, какие особенности первичной структуры и конформации коллагена обеспечивают такую прочность.

2. Выпишите по порядку этапы посттрансляционных изменений в молекуле коллагена: укажите ферменты, кофермент, объясните их роль в формировании коллагенового волокна.

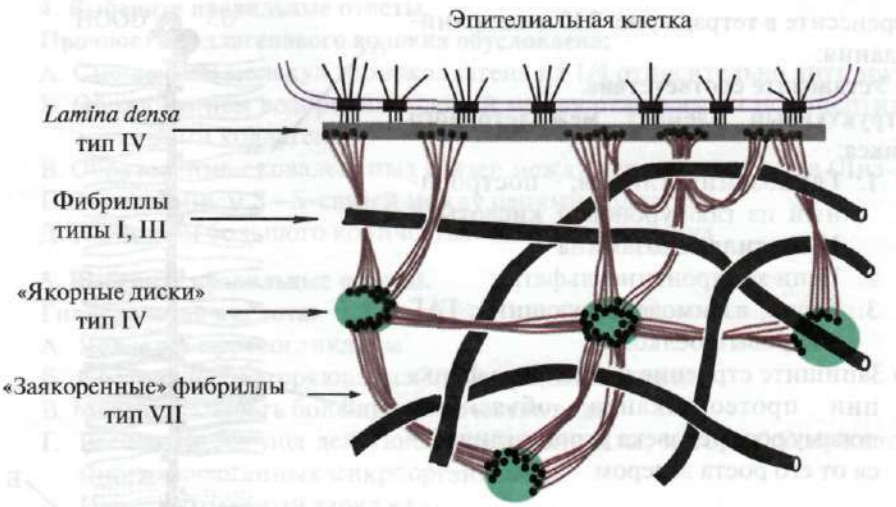


Рис. 7.16. Организация «заякоренных» фибрилл в субэпителиальных слоях

3. Напишите схему реакции, катализируемой коллагеназой. Укажите регуляторные факторы, стимулирующие экспрессию гена этого фермента. Объясните, почему в норме коллагеназа малоактивна.

4. Эластин находится в эластических волокнах тканей, которые способны к обратимому растяжению (стенки кровеносных сосудов, легкие, связки, кожа). Объясните, как структура эластина обеспечивает резиноподобные свойства этих тканей.

5. Изобразите строение межцепочечных структур (лизиннорлейцин и десмозин), назовите аминокислотные остатки, принимающие участие в их формировании; укажите фермент, кофактор.

6. Вспомните структурные формулы дисахаридов, из которых построены основные гликозаминогликаны. Заполните следующую таблицу:

Гликозаминогликан	Мономерные звенья		Структурная формула дисахарида
	Гексуроновая кислота	Гексозамин	
1. Гиалуроновая кислота			
2. Хондроитинсульфат			
3. Кератансульфат			
4. Дерматансульфат			
5. Гепарансульфат			

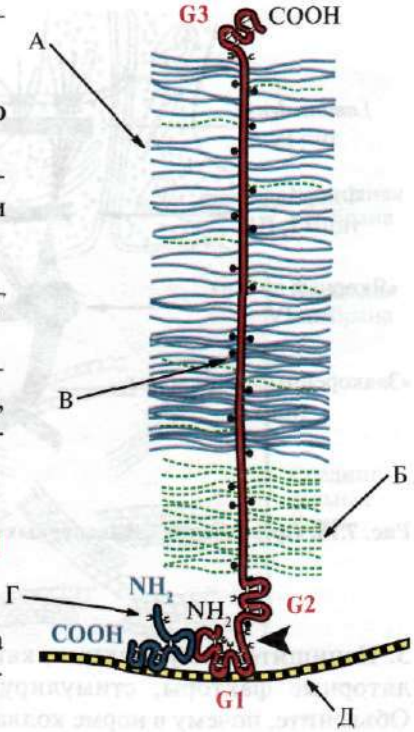
7. Перенесите в тетрадь рис. 7.10 и выполните задания:

а) **Установите соответствие.**

Структурный элемент межклеточного матрикса:

1. Гликозаминогликан, построенный из глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина
2. Цепи хондроитинсульфата
3. Белок, взаимодействующий с ГАГ и коровым белком

б) Запишите строение и основные функции протеогликанов, объясните, почему рост человека утром отличается от его роста вечером



ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильный ответ.

Для полипептидных цепей коллагена характерны последовательности аминокислот:

А. —Цис—Лей—Три—
Б. —Лиз—Арг—Про—
В. —Гли—Оксипро—Про—
Г. —Оксипро—Глу—Асп—
Д. —Мет—Гис—Про—

2. Выберите правильный ответ.

В образовании десмозина участвует:

А. Оксипролин
Б. Метионин
В. Аргинин
Г. Лизин
Д. Тирозин

3. Выберите правильный ответ.

В состав протеогликанов базальных мембран входят:

А. Гиалуроновая кислота
Б. Хондроитинсульфаты
В Кератансульфаты
Г. Гепарансульфаты
Д. Дерматансульфаты

4. Выберите правильные ответы.

Прочность коллагенового волокна обусловлена:

А. Смещением молекул тропоколлагена на 1/4 относительно друг друга

Б. Образованием водородных связей между отдельными полипептидными цепями коллагена

В. Образованием ковалентных связей между цепями коллагена (Лиз-Лиз)

Г. Образованием S—S-связей между цепями коллагена

Д. Наличием большого количества «жестких» молекул

5. Выберите правильные ответы.

Гиалуроновая кислота:

А. Является протеогликаном

Б. Состоит из повторяющихся дисахаридных единиц

В. Может связывать большие количества воды

Г. Расщепляется под действием гиалуронидазы, которая содержится во многих патогенных микроорганизмах

Д. Имеет суммарный заряд «+»

6. Выберите правильные ответы.

Десмозин:

А. Образован аминокислотными остатками четырех полипептидных цепей

Б. Определяет способность эластина к растяжению и сжатию

В. Содержит остатки реактивного альдегида

Г. При недостатке Cu^{2+}, B_6, PP нарушается формирование этой структуры

Д. В структуру входят остатки гидроксипролина

7. Установите соответствие:

А. Коллаген

Б. Эластин

В. Фибронектин

Г. Ламинин

Д. Нидоген

1. Не имеет характерной конформации
2. Состоит из двух полипептидных цепей, соединенных дисульфидными связями
3. Основной компонент межклеточного матрикса хрящей, костей, сухожилий

8. Установите соответствие.

Фермент:

А. Пролилгидроксилаза

Б. Коллагеназа

В. Эластаза

Г. Лизилоксидаза

Д. Гликозилтрансфераза

Кофактор:

1. Fe^{2+}
2. Cu^{2+}
3. Zn^{2+}

9. Установите правильную последовательность событий.
В ходе биосинтеза коллагена происходит:

А. Гидроксилирование Про и Лиз
Б. Образование проколлагена
В. Гликозилирование
Г. Отщепление концевых пропептидов
Д. Синтез пептидных цепей препроколлагена

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. В
2. Г
3. Г
4. А, Б, В, Д
5. Б; В; Г
6. А, Б, В, Г
7. 1—Б, 2—В, 3—А
8. 1—А, 2—Г, 3—Б
9. Д→А→В→Б→Г

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Межклеточный матрикс
2. Коллаген
3. Эластин
4. Гликозаминогликаны
5. Протеогликаны
6. Витамин С
7. Коллагеназа
8. Фибронектин
9. Ламинин
10. Соединительная ткань
11. Базальные мембраны

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Синдром Элерса—Данлоса тип VIII: малый рост, деформация суставов, искривление позвоночника. Причина заболевания — дефект ферментов проколлагенпептидаз. Нарушение каких этапов синтеза коллагена наблюдается при этом заболевании и приводит к указанным клиническим проявлениям?

Для ответа на вопрос:

а) укажите особенности строения коллагена, назовите основные этапы его синтеза и созревания;

б) укажите что такое проколлаген, изобразите его строение;

в) представьте схему действия проколлагенпептидаз, назовите образующийся продукт и его функции в организме.

2. Клинические проявления цинги — кровоизлияния под кожу и слизистые оболочки, кровоточивость десен, выпадение зубов, анемия. С недостатком какого витамина связано это заболевание и к нарушению какого процесса оно приводит?

Для ответа на вопрос:

а) назовите этот витамин, объясните, почему он хорошо всасывается в верхних отделах кишечника;

б) вспомните, в синтезе какого белка участвует этот витамин, опишите строение этого белка;

в) напишите реакцию, в которой участвует данный витамин, объясните его функцию, назовите фермент; укажите вещества, необходимые для протекания этой реакции.

3. α-Цепь коллагена содержит много остатков глицина. Мутации, в результате которых глицин заменяется на какую-либо другую аминокислоту, приводят к серьезным последствиям: ломкости костей, аномалиям зубов, гиперподвижности суставов и т.д. Почему это происходит? Для ответа на вопрос:

а) укажите аминокислотный состав коллагена; объясните, какое значение это имеет для формирования структуры коллагена;

б) назовите особенности первичной структуры коллагена и его основную посттрансляционную модификацию; напишите реакцию, укажите фермент и кофермент;

в) объясните, какое значение имеют остатки глицина для образования нормальной молекулы тропоколлагена.

4. Системная склеродермия — заболевание, при котором активируется синтез коллагена, развивается фиброз кожи и внутренних органов. Какой метаболит свидетельствует об интенсивности обмена коллагена и как он изменяется при этом заболевании?

Для ответа на вопрос:

а) вспомните особенности катаболизма коллагена, основной продукт, который появляется в крови и моче;

б) назовите ферменты катаболизма коллагена, их основные типы;

в) объясните, почему для лечения этого заболевания применяют стероидные гормоны.

5. Многие патогенные микроорганизмы (возбудители гнойных инфекций, газовой гангрены) содержат фермент гиалуронидазу, которая способствует внедрению этих микроорганизмов в ткани, а также возникновению и распространению патологического процесса. Почему это происходит?

Для ответа на вопрос:

а) назовите субстрат гиалуронидазы, опишите его строение;

б) укажите, к какому классу веществ он относится и какую роль играет в структурной организации и функционировании межклеточного матрикса;

в) объясните, какую роль играет гиалуронидаза в распространении патологического инфекционного процесса.

6. Одним из факторов, обусловливающих метастазирование клеток злокачественных опухолей, является снижение количества одного из структурных белков межклеточного матрикса на поверхности клеток. Почему при недостаточности этого белка между клетками злокачественной ткани резко ослаблена адгезия? Для ответа на вопрос:

а) назовите этот белок, укажите особенности его строения;

б) вспомните структурные компоненты межклеточного матрикса, которые могут присоединяться к этому белку, укажите роль этих компонентов в организации межклеточного матрикса.

Модуль 8

ОБМЕН ЛИПИДОВ

Структура модуля	Темы модуля
Модульная единица 1	8.1. Строение и функции основных липидов организма человека 8.2. Переваривание и всасывание жиров. Ресинтез жиров в клетках слизистой оболочки кишечника 8.3. *Хиломикроны — транспортная форма экзогенных жиров*
Модульная единица 2	8.4. Биосинтез высших жирных кислот и его регуляция 8.5. Биосинтез жиров в печени и жировой ткани. Регуляция синтеза жиров 8.6. Ожирение
Модульная единица 3	8.7. Мобилизация жира. Гормональная регуляция мобилизации жиров 8.8. β-Окисление жирных кислот — источник энергии для синтеза АТФ. Регуляция β-окисления 8.9. Кетоновые тела: синтез и катаболизм. Кетоацидоз 8.10. Производные полиеновых кислот — эйкозаноиды: строение, биосинтез и биологическое действие
Модульная единица 4	8.11. Холестерол: биологические функции. Поступление с пищей и транспорт кровью экзогенного холестерола 8.12. Биосинтез холестерола и его регуляция 8.13. *Биосинтез желчных кислот и их роль в поддержании* гомеостаза холестерола в организме. Биохимия желчнокаменной болезни 8.14. Роль липопротеинов в транспорте холестерола 8.15. Типы дислипопротеинемий. Биохимические основы патогенеза и лечения атеросклероза

Модульная единица 1

СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ОСНОВНЫХ ЛИПИДОВ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА. ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ ЛИПИДОВ. ТРАНСПОРТ ЖИРОВ ХИЛОМИКРОНАМИ

Цели изучения

Уметь:

1. Использовать знания о переваривании и всасывании липидов для понимания этих процессов в норме и для объяснения симптомов, возникающих при их нарушении.
2. Интерпретировать результаты исследования активности панкреатической липазы.

3. Интерпретировать результаты биохимических исследований крови при гиперхиломикронемии.

Знать:

1. Строение и функции липидов организма человека.
2. Процессы переваривания и ассимиляции жиров, последствия их нарушений.
3. Строение и функции липопротеинов, диагностическое значение определения липопротеинов крови при некоторых патологиях липидного обмена.
4. Причины и клинические проявления гиперхиломикронемии.

ТЕМА 8.1. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ОСНОВНЫХ ЛИПИДОВ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

1. Липиды — это разнообразная по строению группа органических молекул, имеющих общие свойства — гидрофобность или амфифильность. Благодаря этим свойствам липиды образуют структуры, не смешиваемые с водой, например капли жира в адипоцитах или бислойные структуры мембран. Липиды подразделяются на ряд классов (табл. 8.1).

Жирные кислоты входят в состав большинства липидов организма человека (табл.8.1). Они могут быть связаны как с глицеролом (ТАГ и глицерофосфолипиды), так и с аминоспиртом сфингозином, образуя группу сфинголипидов. Жирные кислоты, наряду с глюкозой, являются важнейшим источником энергии («топливные молекулы»). Жирные кислоты в организме человека содержат четное число С-атомов (табл. 8.2), что определяется способом их синтеза.

Жиры — триацилглицеролы — самая компактная и энергоемкая форма хранения энергии. Жиры запасаются в жировых клетках — адипоцитах, которые входят в состав жировой ткани. В норме содержание жиров в организме человека составляет 6—10 кг. Этого количества жиров достаточно для обеспечения энергией организма в течение 40—50 дней при полном голодании. Жировая ткань выполняет также теплоизолирующую и механическую защитные функции.

Фосфолипиды — молекулы, обладающие амфифильными свойствами, так как они имеют гидрофобную часть, образованную чаще всего радикалами жирных кислот, и гидрофильную часть — остаток фосфорной кислоты, аминоспирта или аминокислоты. Фосфолипиды могут вследствие своих амфифильных свойств образовывать бислойные структуры мембран или гидрофильный монослой на поверхности липопротеинов — частиц, обеспечивающих транспорт гидрофобных липидов кровью. Фосфолипиды разделяют на **глицерофосфолипиды**, основой строения которых является глицерол, и **сфинголипиды**, имеющие в своей структуре аминоспирт сфингозин (табл. 8.1). **Сфинголипиды** содержатся в мембранах многих клеток; в наружных мембранах они являются составной частью антигенов

Таблица 8.1. Строение и функции основных классов липидов человека

Класс липидов	Схема строения	Функции	Преимущественная локализация в организме
Жирные кислоты	*R-COOH*	*Структурные компоненты* большинства классов липидов, источники энергии	*Все клетки* (в составе других классов липидов)
Триацилглицеролы (ТАГ)	$H_2C-O-\overset{O}{\overset{\|\|}{C}}-R_1$ $R_2-\overset{O}{\overset{\|\|}{C}}-O-CH$ $H_2C-O-\overset{O}{\overset{\|\|}{C}}-R_3$	Запасание энергетического материала, термоизоляция, механическая защитная функция	Адипоциты
Глицерофосфолипиды: X-холин; этаноламин; серин; инозитолбисфосфат	$H_2C-O-\overset{O}{\overset{\|\|}{C}}-R_1$ $R_2-\overset{O}{\overset{\|\|}{C}}-O-CH$ $H_2C-O-\overset{O}{\overset{\|\|}{P}}-O-X$ OH	Структурные компоненты мембран; фосфатидилхолин, кроме того, структурный элемент липопротеинов, компонент сурфактанта, предотвращающего слипание альвеол (в этом случае R_1 и R_2 – пальмитиновая кислота)	Мембраны клеток, монослой на поверхности липопротеинов, альвеолы легких
Сфингофосфолипиды-сфингомиелины	Сфингозин $O=P-O$ Жирная кислота Холин	Основные структурные компоненты мембран клеток нервной ткани	Миелиновые оболочки нейронов, серое вещество мозга
Гликолипиды: цереброзиды, если X–моносахарид; ганглиозиды, если X–углеводы сложного состава	Сфингозин Углевод X Жирная кислота	Компоненты мембран клеток нервной ткани, антигенные структуры на поверхности разных типов клеток; рецепторы, структуры, обеспечивающие взаимодействие клеток	Внешний слой клеточных мембран
Стероиды	Холестерол и его производные	Компонент мембран, предшественник в синтезе желчных кислот и стероидных гормонов	Мембраны клеток, липопротеины крови

Таблица 8.2. Состав и строение жирных кислот организма человека

Жирные кислоты	$C_{n:m}$	ω	Состав жирных кислот, % **
Пальмитиновая	16:0		30,0
Стеариновая	18:0		15,3
Пальмитоолеиновая	16:1 Δ 9		1,2
Олеиновая	18:1 Δ 9		11,9
Линолевая	18:2 Δ 9, 12*	6	19,4
Линоленовая	18:3 Δ 9, 12, 15*	3	0,3
Эйкозатриеновая	20:3 Δ 8, 11, 14	6	2,8
Арахидоновая	20:4 Δ 5, 8, 11, 14	6	8,9
Эйкозапентаеновая	20:5 Δ 5, 8, 11, 14, 17	3	2,1
Докозапентаеновая	22:5 Δ 7, 10, 13, 16, 19	3	0,6
Докозагексаеновая	22:6 Δ 4, 7, 10, 13, 16, 19	3	4,3

Примечание. C_n — число атомов углерода в данной жирной кислоте; m — число двойных связей в радикале жирной кислоты; Δ9, 12 — положение двойных связей в радикале жирной кислоты, считая от первого, карбоксильного углерода; ω-3, ω-6 — положение первой двойной связи, считая от метильного углерода радикала жирной кислоты; знаком * отмечены полиеновые эссенциальные жирные кислоты, которые должны поступать с пищей. Остальные полиеновые кислоты могут синтезироваться из них, например, арахидоновая кислота может синтезироваться из линолевой (18:2 ω-6). В колонке ** представлен суммарный состав жирных кислот у человека, находящегося на обычном пищевом рационе. В зависимости от типа ткани, жирных кислот пищи и ряда других условий состав жирных кислот липидов может несколько отличаться от указанного

и рецепторов. Особенно много сфинголипидов в нервной ткани, где они формируют миелиновые оболочки нейронов.

Холестерол — основной стероид и предшественник всех остальных стероидов в организме человека. Холестерол входит в состав мембран всех клеток, влияя на свойства их гидрофобного слоя, и является предшественником в синтезе желчных кислот, стероидных гормонов.

2. Эссенциальные факторы питания липидной природы. Некоторые липиды не синтезируются в организме человека и поэтому являются незаменимыми факторами питания. К ним относятся жирные кислоты с двумя и большим числом двойных связей (полиеновые) — **эссенциальные жирные кислоты.** Некоторые из этих кислот являются субстратами для синтеза гормонов местного действия — эйкозаноидов (тема 8.10).

Жирорастворимые витамины выполняют разнообразные функции: **витамин А** участвует в процессе зрения, а также роста и дифференцировки клеток; доказана его способность угнетать рост некоторых видов опухолей; **витамин К** участвует в свертывании крови; **витамин D** участвует в регуляции обмена кальция; **витамин Е** — антиоксидант, ингибирует образование свободных радикалов и таким образом противодействует повреждению клеток в результате перекисного окисления липидов.

ТЕМА 8. 2. ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ ЖИРОВ. РЕСИНТЕЗ ЖИРОВ В КЛЕТКАХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА

1. Основные липиды, поступающие с пищей, являются жирами (до 90%). Переваривание жиров — это процесс их гидролиза под действием фермента панкреатическая липаза. Для действия этого фермента необходимы следующие условия (рис. 8.1): pH≈7,8; **желчные кислоты**, эмульгирующие жиры; белок **колипаза,** синтезируемый в поджелудочной железе и секретируемый вместе с панкреатической липазой.

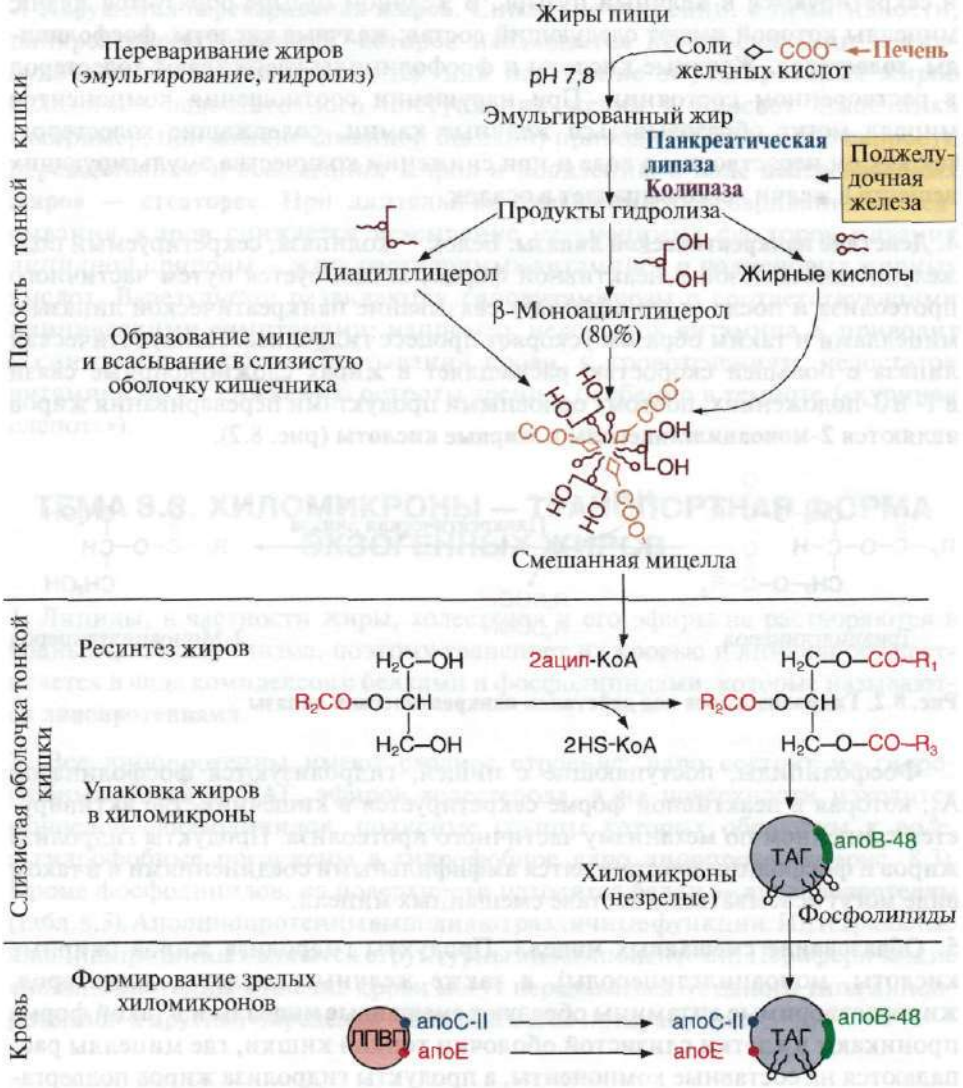


Рис. 8.1. Этапы переваривания и всасывания жиров

2. Оптимальное значение pH в кишечнике для действия панкреатической липазы создается в результате нейтрализации кислого содержимого, поступающего из желудка, бикарбонатом, секретируемым поджелудочной железой:

$$H^+ + HCO_3^- \longrightarrow H_2CO_3 \longrightarrow H_2O + CO_2\uparrow$$

3. Эмульгирование жиров (смешивание жиров с водой) происходит под действием поверхностно-активных веществ — солей желчных кислот. В процессе эмульгирования увеличивается площадь поверхности контакта жиров — субстратов панкреатической липазы и фермента, растворенного в водной среде. Желчные кислоты синтезируются в печени из холестерола и секретируются в желчный пузырь. В желчном пузыре образуется желчь, мицеллы которой имеют следующий состав: **желчные кислоты**, **фосфолипиды**, **холестерол.** Желчные кислоты и фосфолипиды удерживают холестерол в растворенном состоянии. При нарушении соотношения компонентов мицелл могут образовываться желчные камни, содержащие холестерол, так как он нерастворим в воде и при снижении количества эмульгирующих веществ в желчи легко выпадает в осадок.

4. Действие панкреатической липазы. Белок — колипаза, секретируемый поджелудочной железой в неактивной форме, активируется путем частичного протеолиза и после этого облегчает связывание панкреатической липазы с мицеллами и таким образом ускоряет процесс гидролиза. Панкреатическая липаза с большей скоростью расщепляет в жирах сложноэфирные связи в 1- и 3-положениях, поэтому основными продуктами переваривания жиров являются **2-моноацилглицеролы** и **жирные кислоты** (рис. 8.2).

Рис. 8.2. Гидролиз жиров под действием панкреатической липазы

Фосфолипиды, поступающие с пищей, гидролизуются фосфолипазой A_2, которая в неактивной форме секретируется в кишечник, где активируется трипсином по механизму частичного протеолиза. Продукты гидролиза жиров и фосфолипидов становятся амфифильными соединениями и в таком виде могут всасываться в составе смешанных мицелл.

5. Образование смешанных мицелл. Продукты гидролиза жиров (жирные кислоты, моноацилглицеролы), а также желчные кислоты, холестерол, жирорастворимые витамины образуют **смешанные мицеллы** и в такой форме проникают в клетки слизистой оболочки тонкой кишки, где мицеллы распадаются на составные компоненты, а продукты гидролиза жиров подвергаются **ресинтезу**.

6. Ресинтез жиров в энтероцитах. Ресинтезу жиров предшествует активация жирной кислоты, т.е. присоединение ее к коферменту А:

$$RCOOH + АТФ + HS\text{-}KoA \xrightarrow{\text{Ацил-КоА-синтетаза}} RCO\sim S\text{-}KoA + АМФ + PP_i.$$

Ресинтез молекул ТАГ из 2-моноацилглицерола и активных форм жирных кислот (рис. 8.1) происходит под действием ацилтрансфераз. В ходе ресинтеза образуются ТАГ, отличающиеся по составу от тех, которые входили в состав пищи, так как в ресинтезе участвуют и жирные кислоты, синтезируемые в организме человека.

7. **Нарушения переваривания жиров.** Снижение секреции, или активности, панкреатической липазы, которое наблюдается при воспалении поджелудочной железы (панкреатите), или нарушение эмульгирования жиров вследствие недостаточного поступления желчи в просвет кишечника (например, при желчнокаменной болезни) приводит к снижению скорости переваривания и всасывания жиров и появлению в кале **непереваренных жиров — стеаторее**. При длительном нарушении переваривания и всасывания жиров снижается всасывание незаменимых факторов питания липидной природы — жирорастворимых витаминов и полиеновых жирных кислот. В результате развиваются гиповитаминозы с соответствующими клиническими симптомами; например, недостаток витамина К приводит к снижению скорости свертывания крови, к кровотечениям, недостаток витамина А — к снижению остроты зрения, особенно в темноте («куриная слепота»).

ТЕМА 8.3. ХИЛОМИКРОНЫ — ТРАНСПОРТНАЯ ФОРМА ЭКЗОГЕННЫХ ЖИРОВ

1. Липиды, в частности жиры, холестерол и его эфиры не растворяются в водных фазах организма, поэтому транспорт их кровью и лимфой осуществляется в виде комплексов с белками и фосфолипидами, которые называются **липопротеинами**.

2. Все липопротеины имеют сходное строение: ядро состоит из гидрофобных молекул: ТАГ, эфиров холестерола, а на поверхности находится монослой фосфолипидов, полярные группы которых обращены к воде, а гидрофобные погружены в гидрофобное ядро липопротеина (рис. 8.3). Кроме фосфолипидов, на поверхности находятся белки — **аполипопротеины** (табл. 8.3). Аполипопротеины выполняют различные функции. Интегральные аполипопротеины являются структурными компонентами. Периферические аполипопротеины в плазме крови могут передаваться от одного типа липопротеинов к другим, определяя их дальнейшие превращения.

Таблица 8.3. Характеристика липопротеинов

Показатель	Хиломикроны	ЛПОНП	ЛППП	ЛПНП	ЛПВП
Состав, %:					
белки	2	10	11	22	50
ФЛ	3	18	23	21	27
ХС	2	7	8	8	4
ЭХС	3	10	30	42	16
ТАГ	85	55	26	7	3
Функции	Транспорт липидов из клеток кишечника	Транспорт липидов, синтезируемых в печени	Промежуточная форма превращения ЛПОНП в ЛПНП	Транспорт холестерола в ткани	Транспорт холестерола из тканей в печень. Удаление избытка холестерола из клеток. Донор апопротеинов
Место образования	Эпителий тонкого кишечника	Гепатоциты	Кровь (из ЛПОНП)	Кровь (из ЛППП)	В клетках печени — ЛПВП-предшественники
Плотность, г/мл	0,92—0,98	0,96—1,00		1,00—1,06	1,06—1,21
Диаметр частиц, нм	Более 120	30—100		21—100	7—15
Основные аполипопротеины	B-48 C-II E	B-100 C-II E	B-100 E C-II	B-100	A-I C-II E

Примечание. ХМ — хиломикроны; ФЛ — фосфолипиды; ХС — холестерол; ЭХС — эфиры холестерола. Функции аполипопротеинов: B-48 — основной белок ХМ; B-100 — основной белок ЛПОНП и ЛПНП — взаимодействует с рецепторами ЛПНП; C-II — активатор липопротеинлипазы, переносится с ЛПВП на незрелые ХМ и ЛПОНП в крови; E — взаимодействует с рецепторами на поверхности гепатоцитов; A-I — активатор фермента ЛХАТ; ЛПОНП — липопротеины очень низкой плотности; ЛППП — липопротеины промежуточной плотности; ЛПНП — липопротеины низкой плотности; ЛПВП — липопротеины высокой плотности

Основной структурный аполипопротеин хиломикронов — белок B-48, который синтезируется в клетках слизистой оболочки тонкой кишки, необходим для формирования структуры хиломикронов. Образовавшиеся в энтероцитах липопротеины представляют собой **незрелые хиломикроны**, в которые включаются ресинтезированные жиры и всосавшиеся гидрофобные вещества: холестерол, жирорастворимые витамины. Незрелые хиломикроны сначала попадают в лимфу, затем — в кровоток. В крови незрелые хиломикроны получают от ЛПВП, образующихся в печени, апопротеины — C-II, E

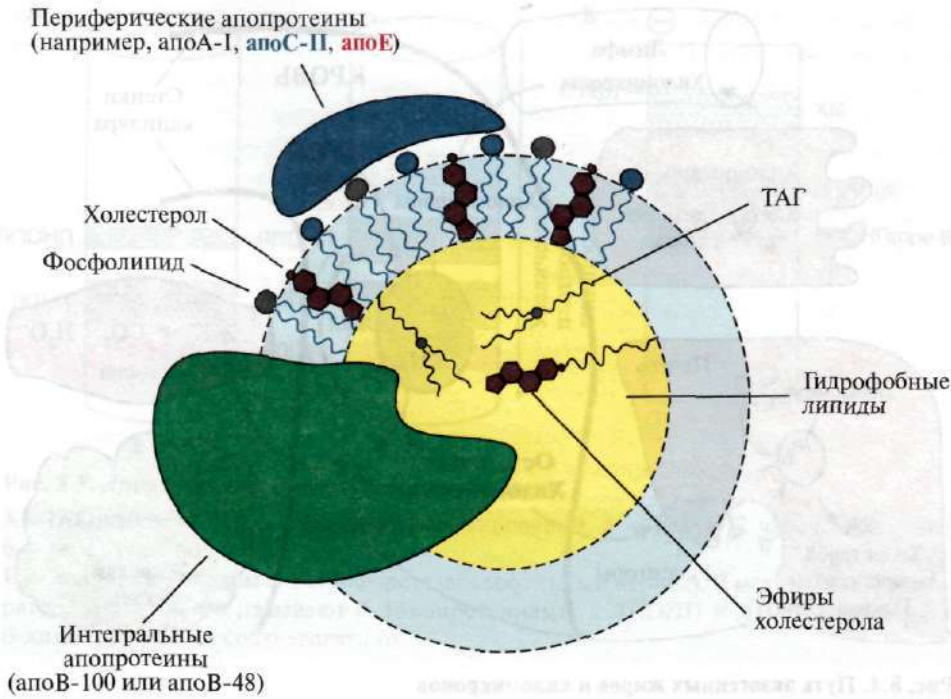


Рис. 8.3. Строение липопротеинов плазмы крови

(рис. 8.1, 8.2, табл. 8.3) и превращаются в **зрелые хиломикроны**. Появление в крови в абсорбтивный период хиломикронов (довольно крупных частиц) делает сыворотку крови опалесцирующей.

3. В крови зрелые хиломикроны подвергаются действию фермента липопротеинлипазы, который локализуется на поверхности эндотелия сосудов, в основном в жировой и мышечной тканях. Этот фермент «узнает» *хиломикроны, взаимодействуя с апоС-II, который активирует этот фермент.* Липопротеинлипаза гидролизует жиры в составе хиломикронов до глицерола и свободных жирных кислот (рис. 8.4). Глицерол переносится в печень, а жирные кислоты могут или окисляться в тканях, являясь источником энергии, или депонироваться в виде ТАГ жировой ткани. Структуры, которые образуются из хиломикронов после удаления основной части ТАГ, называются **остаточными хиломикронами** (ХМ ост.) и захватываются печенью через рецепторы, связывающие апоЕ. АпоС-II после удаления ТАГ из ХМ переносятся обратно на ЛПВП. В составе остаточных хиломикронов содержатся холестерол и его эфиры, жирорастворимые витамины, апопротеины. *Остаточные хиломикроны* в клетках печени подвергаются гидролитическому действию ферментов лизосом. В результате освобождаются холестерол, жирные кислоты,

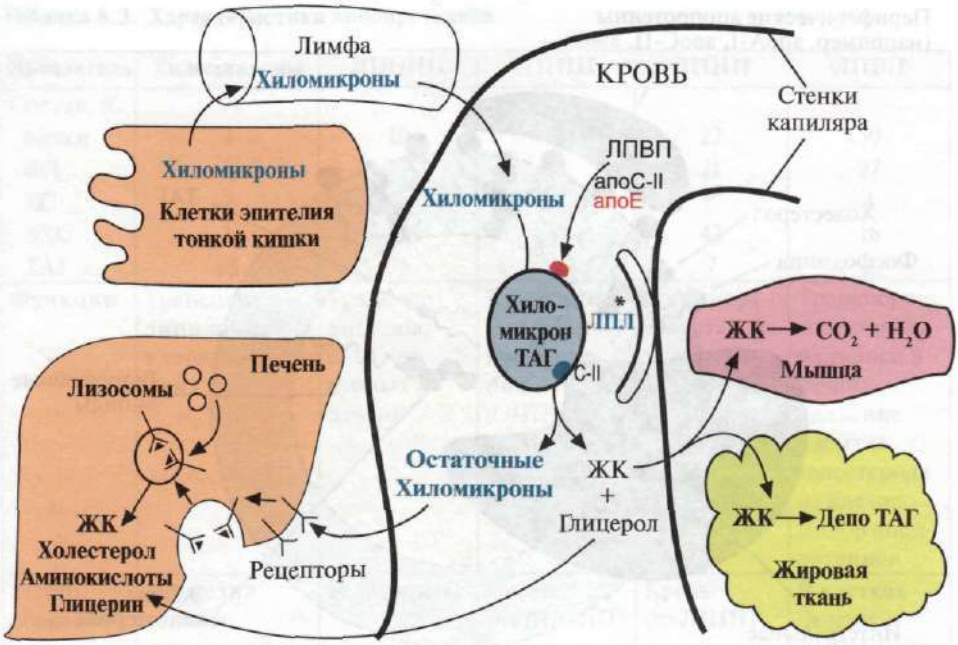


Рис. 8.4. Путь экзогенных жиров и хиломикронов
ЛПЛ — липопротеинлипаза; ЖК — жирные кислоты

аминокислоты. Таким образом, **функцию хиломикронов** можно охарактеризовать как **транспорт экзогенных пищевых липидов, в основном жиров, из кишечника в ткани**. В течение 1–3 часов хиломикроны исчезают из крови и сыворотка человека в постабсорбтивный период становится более прозрачной.

4. В крови содержатся и другие типы липопротеинов (табл. 8.3). Если исследовать липопротеины крови методом ультрацентрифугирования или электрофореза, то можно получить результаты, представленные на рис. 8.5.

5. При генетическом дефекте липопротеинлипазы содержание в крови хиломикронов и ЛПОНП будет повышенным по сравнению с нормой даже в постабсорбтивный период. На поверхности такой сыворотки при стоянии на холоде всплывают белые жирные хлопья, образованные хиломикронами, что является проявлением **гипертриацилглицеролемии** и, соответственно, **гиперхиломикронемии**.

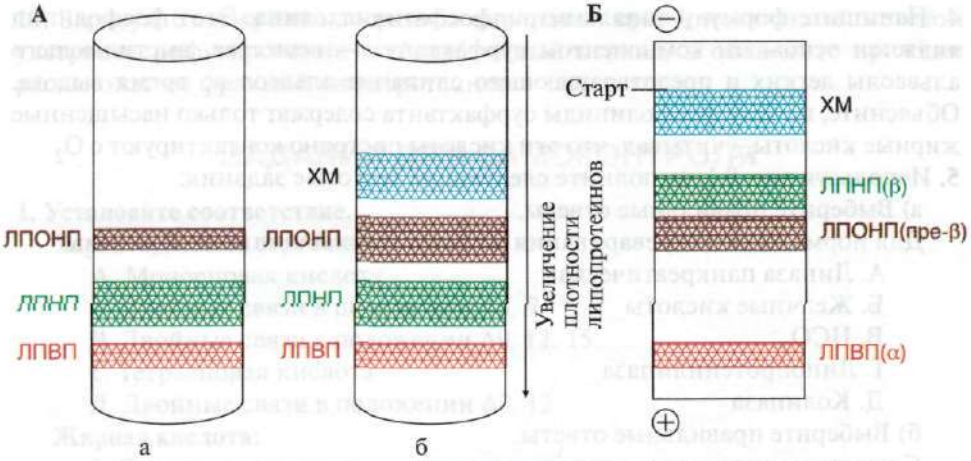


Рис. 8.5. Липидограммы сыворотки крови человека.

А — получены методом ультрацентрифугирования: а — через 12 часов после еды; б — через 1 час после еды;

Б — получены методом электрофореза (абсорбтивный период). В медицинской литературе ЛПВП часто называют α-липопротеинами, а ЛПОНП и ЛПНП — пре-β- и β-липопротеинами соответственно

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Ознакомьтесь с табл. 8.2 и примечанием к ней. Используя данные колонки 1, выпишите названия пяти жирных кислот, преобладающих в липидах человека, и запишите их формулы различными способами. Например, линолевая кислота может быть представлена следующими формулами:

$C_{18:2}$,

$C_{17}H_{31}COOH$,

$C_{18:2}$ ω-6 (ω-6 — положение первой двойной связи, считая от метильного конца кислоты),

$C_{18:2}$ Δ9, 12 (Δ9, 12 — положение двойных связей, считая от карбоксильного С-атома).

2. Используя данные табл. 8.2, объясните различие в строении жирных кислот ω-3 и ω-6 семейств. Приведите примеры соответствующих жирных кислот и укажите возможные пути их использования в организме.

3. Напишите формулу 1-пальмитоил-2-линолеоил-3-стеароилглицерола. Обратите внимание на то, что такой состав жирных кислот характерен для животных жиров. Ненасыщенные кислоты обычно располагаются у второго углеродного атома глицерола. Растительные масла содержат больше полиненасыщенных жирных кислот и являются жидкими. Напишите пример формулы триацилглицерола растительного масла.

4. Напишите формулу дипальмитоилфосфатидилхолина. Этот фосфолипид является основным компонентом сурфактанта — вещества, выстилающего альвеолы легких и предотвращающего слипание альвеол во время выдоха. Объясните, почему фосфолипиды сурфактанта содержат только насыщенные жирные кислоты, учитывая, что эти кислоты постоянно контактируют с O_2.

5. Используя рис. 8.1, выполните следующие тестовые задания:

а) Выберите правильные ответы.

Для нормального переваривания жиров в тонкой кишке необходимы:

А. Липаза панкреатическая

Б. Желчные кислоты

В. HCO_3^-

Г. Липопротеинлипаза

Д. Колипаза

б) Выберите правильные ответы.

С участием желчных кислот происходит:

А. Эмульгирование жиров

Б. Повышение активности панкреатической липазы

В. Всасывание жирных кислот и холестерола

Г. Поступление глицерола в энтероциты

Д. Увеличение активности липопротеинлипазы

6. Напишите формулы таурохолевой и гликохолевой кислот (см. модульная единица 4, рис. 8.34) в ионизированной форме и объясните, почему вещества такого типа называются поверхностно-активными. Опишите механизм эмульгирующего действия исходя из их структуры.

7. Напишите реакцию гидролиза ТАГ, используя их общую формулу, под действием панкреатической липазы и реакции, объясняющие дальнейшие превращения продуктов гидролиза жиров, происходящие в клетках слизистой кишечника.

8. Используя данные табл. 8.3, выпишите основные липидные компоненты хиломикронов, ЛПОНП, опишите разницу в их составе и функции.

9. Выполните задания.

Сравните свойства панкреатической и ЛП-липаз. Для этого:

а) Запишите табл. 8.4. в тетрадь и заполните соответствующие колонки.

б) Напишите реакцию, катализируемую ЛП-липазой.

Таблица 8.4. Сравнительные характеристики липаз

	Панкреатическая липаза	Липопротеин-липаза	ТАГ-липаза
Локализация реакции			
Активаторы реакции			
Субстраты реакции			
Основные продукты реакции			
Судьба продуктов реакции			

Примечание. Колонку «ТАГ-липаза» можно заполнить на последующих занятиях. Фермент ТАГ-липаза имеет и другие названия: «гормончувствительная липаза», «тканевая липаза»

10. Зарисуйте схему липидограммы сыворотки крови, полученной методом ультрацентрифугирования в абсорбтивный период, и объясните принцип расположения фракций липопротеинов.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Установите соответствие.

Характеристика строения:

А. Моноеновая кислота
Б. Двойные связи в положении Δ6, 9
В. Двойные связи в положении Δ9, 12, 15
Г. Тетраеновая кислота
Д. Двойные связи в положении Δ9, 12

Жирная кислота:

1. Олеиновая кислота
2. Линолевая кислота ω-6
3. Линоленовая кислота

2. Установите соответствие.

Катализируемая реакция:

А. ТАГ + $2H_2O$ → 2-МАГ + 2RCOOH
Б. RCOOH + АТФ + HS-KoA → RCO~S-KoA + АМФ + PP_i
В. 2-МАГ + R CO~S-KoA → ДАГ + HS-KoA
Г. ТАГ + $3H_2O$ → Глицерол + 3RCOOH
Д. Эфир холестерола + H_2O → холестерол + RCOOH

Фермент:

1. Ацилтрансфераза
2. Ацил-КоА-синтетаза
3. ЛП-липаза

3. Установите правильную последовательность событий.

При переваривании и всасывании жиров:

А. Эмульгирование пищевых липидов
Б. Гидролиз жиров под действием панкреатической липазы
В. Секреция холецистокинина при приеме пищи
Г. Секреция желчных кислот
Д. Образование смешанных мицелл
Е. Всасывание продуктов гидролиза

4. Выберите правильные ответы.

В ресинтезе ТАГ в клетках слизистой оболочки тонкой кишки участвуют вещества:

А. 2-Моноацилглицерол
Б. Ацилтрансферазы
В. Ацил-КоА
Г. Глицерол-3-фосфат
Д. Жирные кислоты жиров

5. Выберите правильные ответы.

Гипертриацилглицеролемия может быть результатом:

А. Снижения синтеза апоВ-48
Б. Генетического дефекта ЛП-липазы
В. Изменения структуры апоЕ
Г. Снижения секреции желчных кислот
Д. Генетического дефекта апоС-II

6. Установите соответствие.

А. Передают апоВ-48 на ЛПВП
Б. Формируются в печени
В. Переходят из энтероцитов в лимфу
Г. Содержат апоС-II и апоЕ
Д. Захватываются гепатоцитами

1. ХМ незрелые
2. ХМ зрелые
3. ХМ ост.

7. Выполните «цепное» задание:

а) ассимиляция жиров в тонкой кишке начинается с:

А. Гидролиза
Б. Ресинтеза
В. Активации жирной кислоты
Г. Эмульгирования
Д. Образования смешанных мицелл

б) это обеспечивает:

А. Формирование ресинтезированных ТАГ
Б. Участие жирной кислоты в ресинтезе
В. Всасывание смешанных мицелл
Г. Образование тонкодисперсной эмульсии
Д. Использование продуктов гидролиза жирных кислот и β-МАГ

в) в ходе следующего этапа:

А. Происходит гидролиз ТАГ
Б. Образуются смешанные мицеллы
В. Формируются хиломикроны
Г. Активируются жирные кислоты
Д. Протекает ресинтез ТАГ

г) образовавшиеся продукты:

А. Выходят в кровь
Б. Включаются в состав ХМ
В. Всасываются в клетки кишечника
Г. Взаимодействуют с альбумином
Д. Участвуют в ресинтезе жиров

д) далее следует:

А. Действие ЛП-липазы
Б. «Созревание» хиломикронов
В. Ресинтез ТАГ
Г. Формирование хиломикронов
Д. Транспорт хиломикронов кровью

е) течение этого процесса обеспечивают:

А. Ацетил-КоА карбоксилаза
Б. ТАГ-липаза жировой ткани
В. Липаза панкреатического сока
Г. Ацилтрансферазы клеток эндотелия кишечника
Д. ЛП-липаза

ж) продукты этих реакций:

А. Находятся в составе ХМ остаточных
Б. Включаются в состав незрелых ХМ
В. Превращают ХМ в ХМ остаточные
Г. Транспортируются непосредственно в кровь
Д. Образуют поверхностный слой в ХМ

8. Выберите правильный ответ.

Содержание ТАГ в зрелых ХМ составляет:

А. 40%
Б. 50%
В. 20%
Г. 85%
Д. 60%

9. Выберите правильные ответы.

В крови на ХМ незрелые переносятся аполипопротеины:

А. С-II
Б. В-100
В. Е
Г. А-I
Д. В-48

10. Выберите правильные ответы.

Результатом нарушения переваривания и всасывания жиров может быть:

А. Выведение пищевых жиров с фекалиями (стеаторея)
Б. Гиповитаминоз B_1 и B_2
В. Ускорение всасывания глюкозы
Г. Снижение скорости свертывания крови
Д. Снижение зрения в темноте «куриная слепота»

Количественные характеристики обмена липидов, изучаемые в данной модульной единице:

[ТАГ] в сыворотке крови составляет 0,4—1,8 ммоль/л

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. 1—А, 2—Д, 3—В
2. 1—В, 2—Б, 3—Г
3. В, Г, А, Б, Д, Е
4. А, Б, В
5. Б, Д
6. 1—В, 2—Г, 3—Д
7. а) Г, б) Г, в) А, г) В, д) В, е) Г, ж) Б
8. Г
9. А, В
10. А, Г, Д

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Липиды: триацилглицеролы, фосфолипиды, холестерол, гликолипиды, сфинголипиды
2. Эссенциальные жирные кислоты
3. *Жирорастворимые витамины:* A, D, E, K
4. Желчные кислоты
5. Эмульгирование жиров
6. Переваривание жиров
7. Панкреатическая липаза
8. Ресинтез жиров
9. Липопротеины, аполипопротеины
10. Хиломикроны, хиломикроны остаточные (ремнантные частицы)
11. ЛП — липаза
12. Стеаторея
13. Гиперхиломикронемия
14. Гипертриацилглицеролемия

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Жиры пищи, полученной человеком, содержали линолевую, линоленовую и олеиновую кислоты. В составе ХМ через 1 час после еды были обнаружены жиры, содержащие в основном пальмитиновую, линолевую, стеариновую и олеиновую кислоты. Объясните эти результаты, выполнив следующие задания:

а) напишите реакцию гидролиза жира, полученного с пищей;
б) представьте схему следующих этапов ассимиляции жиров;
в) напишите реакции, которые объяснили бы разницу в составе жиров пищи и жиров в составе ХМ.

2. После еды, содержащей жиры и углеводы, внешний вид сыворотки крови изменяется, она становится непрозрачной («молочная сыворотка»), а через 2—3 часа вновь выглядит прозрачной. Объясните эти изменения. Для этого:

а) зарисуйте в тетради диаграмму изменения содержания ТАГ в крови после приема жирной пищи (рис. 8.6);
б) объясните, почему состояние крови после приема жирной пищи характеризуют как «алиментарная гиперлипидемия»;
в) укажите, какие из липопротеинов будут преобладать в сыворотке крови через 1 час после приема насыщенной жирами пищи;
г) укажите состав основных компонентов этих липопротеинов.

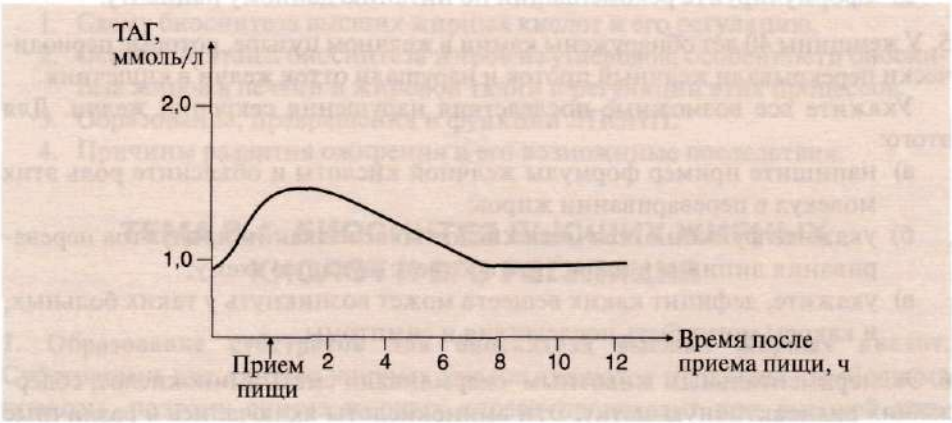


Рис. 8.6. Содержание ТАГ в сыворотке крови после приема пищи, содержащей жир

3. Значение K_m ЛП-липазы, локализующейся в капиллярах жировой ткани, существенно выше, чем значение K_m ЛП-липазы скелетных мышц. Сделайте вывод о биологическом значении этой разницы. Для этого:

а) вспомните, как значение величины K_m характеризует фермент;
б) опишите, как отличается потребление жирных кислот жировой и мышечной тканями при высокой и низкой концентрации в крови липопротеинов, транспортирующих жиры;
в) напишите названия двух ферментов, участвующих в утилизации глюкозы разными тканями, катализирующих одинаковую реакцию, и также отличающихся значениями K_m;
г) укажите биологическое значение отличия по K_m ферментов, участвующих в использовании тканями «топливных молекул» — глюкозы и жиров.

4. У больного 25 лет утром натощак взята сыворотка крови для анализа. Содержание ТАГ составляло 3 ммоль/л. Содержание холестерола соответствует норме. Сыворотка крови мутная, при хранении в холодильнике на поверхности образуются жирные хлопья. Объясните результаты анализов и возможные причины симптомов, наблюдаемых у больного. Для этого ответьте на вопросы и выполните задания:

а) какими методами можно определить содержание фракций липопротеинов в сыворотке крови?

б) нарисуйте схемы (липидограммы), отражающие состав липопротеинов сыворотки крови голодного человека и человека, имеющего указанные симптомы заболевания;

в) перенесите график, представленный на рис. 8.6, в тетрадь. На графике нанесите линию, отражающую изменения в концентрации ТАГ в крови данного пациента по сравнению со здоровым человеком;

г) укажите, нарушения каких молекулярных механизмов может привести к таким изменениям в обмене липидов;

д) сформулируйте рекомендации по питанию данному пациенту.

5. У женщины 40 лет обнаружены камни в желчном пузыре, которые периодически перекрывали желчный проток и нарушали отток желчи в кишечник.

Укажите все возможные последствия нарушения секреции желчи. Для этого:

а) напишите пример формулы желчной кислоты и объясните роль этих молекул в переваривании жиров;

б) укажите функцию желчных кислот во всасывании продуктов переваривания липидов и нарисуйте соответствующую схему;

в) укажите, дефицит каких веществ может возникнуть у таких больных, и каковы могут быть последствия и симптомы.

6. Экспериментальным животным скармливали смесь аминокислот, содержащих радиоактивную метку. Эти аминокислоты включались в различные белки, в том числе и в апопротеины В-48, Е и С-II. В каких органах и липопротеинах можно обнаружить указанные апопротеины?

При ответе:

а) проследите пути этих белков после включения их в структуру соответствующего липопротеина, написав соответствующие схемы;

б) укажите функции каждого из апопротеинов.

7. Пациенту, страдающему избыточным весом, врач прописал препарат ксеникал, который является ингибитором панкреатической липазы; препарат необходимо применять во время еды. Почему применение ксеникала способствует снижению веса? Ответьте на вопрос, выполнив следующие задания:

а) напишите реакцию, катализируемую панкреатической липазой;

б) объясните, почему длительное применение препарата вызывает снижение веса;

в) укажите возможные негативные последствия длительного применения ксеникала.

Модульная единица 2
БИОСИНТЕЗ ВЫСШИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ЖИРОВ

Цели изучения

Уметь:

1. Использовать знания о биосинтезе высших жирных кислот и жиров (липогенезе) для понимания значения этих процессов в организме здорового человека.
2. Объяснять молекулярные механизмы, лежащие в основе развития ожирения.
3. Использовать знания о биосинтезе жирных кислот и жиров для понимания основ рационального питания.
4. Оценить собственный индекс массы тела и дать соответствующие рекомендации по питанию.

Знать:

1. Схему биосинтеза высших жирных кислот и его регуляцию.
2. Основные этапы биосинтеза жиров из углеводов; особенности биосинтеза жиров в печени и жировой ткани и регуляции этих процессов.
3. Образование, превращения и функции ЛПОНП.
4. Причины развития ожирения и его возможнные последствия.

ТЕМА 8.4. БИОСИНТЕЗ ВЫСШИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

1. Образование субстратов для биосинтеза высших жирных кислот. Субстратами для синтеза жирных кислот являются продукты катаболизма глюкозы, поэтому синтез жирных кислот происходит при высокой концентрации глюкозы в крови в абсорбтивный период, в основном, в печени. С меньшей активностью синтез жирных кислот идет в жировой ткани. В период лактации синтез жирных кислот активно происходит в молочных железах и жирные кислоты включаются в жиры молока. В клетках, где происходит синтез жирных кислот, активируются гликолиз и пентозофосфатный путь катаболизма глюкозы, в результате которых образуются субстраты для синтеза жирных кислот: **ацетил-КоА, NADPH, АТФ**. Синтезированные жирные кислоты быстро включаются в состав других молекул: жиров и фосфолипидов. Синтез жирных кислот и жиров называется **липогенезом**.

Образование ацетил-КоА в результате окислительного декарбоксилирования пирувата — конечного продукта гликолиза — происходит в матриксе митохондрий, но ацетил-КоА не проникает через мембрану митохондрий в цитоплазму, где идет синтез жирных кислот. Поэтому ацетил-КоА конденсируется с оксалоацетатом, образуя цитрат, который с помощью транслоказы переносится в цитоплазму (рис. 8.7). В цитоплазме под действием фермента цитратлиазы идет реакция:

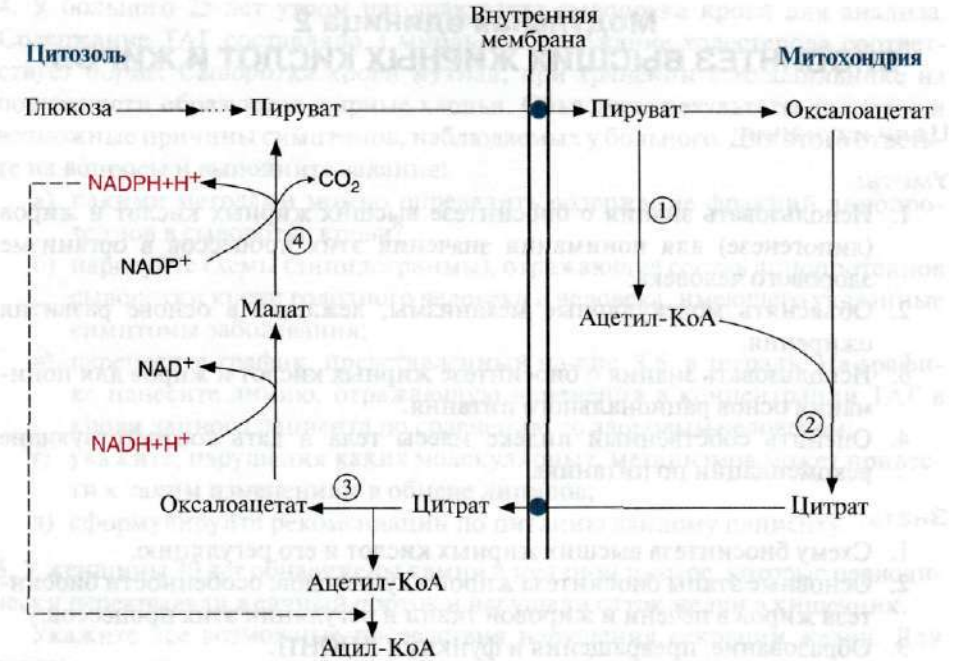
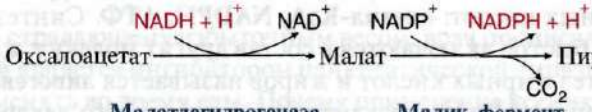


Рис. 8.7. Перенос ацетильных остатков в митохондрий в цитозоль.

Ацетил-КоА, образующийся под действием пируватдегидрогеназного комплекса (1), не проникает через мембрану митохондрий в цитоплазму, где происходит синтез жирных кислот. Поэтому ацетил-КоА конденсируется ферментом цитратсинтазой с оксалоацетатом (2), образуя цитрат, который с помощью транслоказы переносится в цитоплазму, где он расщепляется под действием цитратлиазы (3), и ацетил-КоА используется как субстрат для синтеза жирных кислот. Реакция, катализируемая малик-ферментом (4), является одним из источников NADPH для синтеза жирных кислот

Цитрат + HS-КоА + **АТФ** → Ацетил-КоА + АДФ + P_i + Оксалоацетат.

Ацетил-КоА, перенесенный в цитоплазму, является исходным субстратом для синтеза жирных кислот, а оксалоацетат подвергается следующим превращениям:



Пируват возвращается в матрикс митохондрий, а NADPH, восстановленный в результате действия малик-фермента, используется как донор водорода для последующих реакций синтеза жирных кислот. Другой источник NADPH — реакция, катализируемая ферментом пентозофосфатного пути — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой.

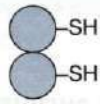
2. Первая реакция синтеза жирных кислот — это превращение ацетил-КоА в малонил-КоА:

$$\underset{\text{Ацетил-КоА}}{CH_3{-}CO{-}KoA} + CO_2 + \text{АТФ} \xrightarrow[\text{карбоксилаза}]{\text{Ацетил-КоА}} \underset{\text{Малонил-КоА}}{HOOC{-}CH_2{-}CO{-}KoA} + \text{АДФ} + P_i$$

Фермент, катализирующий эту реакцию, **ацетил-КоА-карбоксилаза**, является **регуляторным** в биосинтезе жирных кислот. Он относится к классу лигаз и в качестве кофермента использует биотин.

3. Последующие реакции синтеза жирных кислот катализируются ферментным комплексом — синтазой жирных кислот или пальмитатсинтазой. Конечным продуктом синтеза является пальмитиновая кислота.

Синтаза жирных кислот — полифункциональный фермент, состоящий из двух идентичных полипептидных цепей, каждая из которых имеет семь активных центров и ацилпереносящий белок, который переносит растущую цепь жирной кислоты из одного активного центра в другой. Каждый из белков имеет два центра связывания, содержащих SH-группы, одна из которых принадлежит цистеину, другая — фосфопантотеину. Схематично этот комплекс изображают таким образом:



Синтез жирной кислоты начинается с переноса ацетильного, а затем малонильного остатков с помощью ферментов ацетилтрансацилазы и малонилтрансацилазы на активные центры синтазы жирных кислот (рис. 8.8, реакции 1, 2). Далее карбоксильная группа малонила выделяется в виде CO_2 и по освободившейся валентности присоединяется ацетил с образованием ацетоацетил-Е (рис. *8.8*, реакция *3*). Последующие **реакции восстановления, дегидратации, восстановления (реакции 4—6)** приводят к образованию радикала бутирила, связанного с ферментом. Затем повторяется такой же цикл реакций и образуется радикал жирной кислоты с шестью углеродными атомами. Циклы повторяются вплоть до образования радикала пальмитиновой кислоты, который ферментом тиоэстеразой отщепляется от ферментного комплекса. Так как биосинтез жирных кислот является процессом, в котором повторяются одни и те же последовательности реакций, процесс называют циклическим; в каждом цикле радикал жирной кислоты увеличивается на два атома углерода, источником которых является **малонил-КоА** (рис. *8.8*, *8.9*). В каждом цикле происходят реакции восстановления с использованием $NADPH + H^+$, одним из источников которого является пентозофосфатный путь окисления глюкозы, другим — малик-фермент. Реакции восстановления обеспечивают синтез насыщенного алифатического радикала жирных кислот.

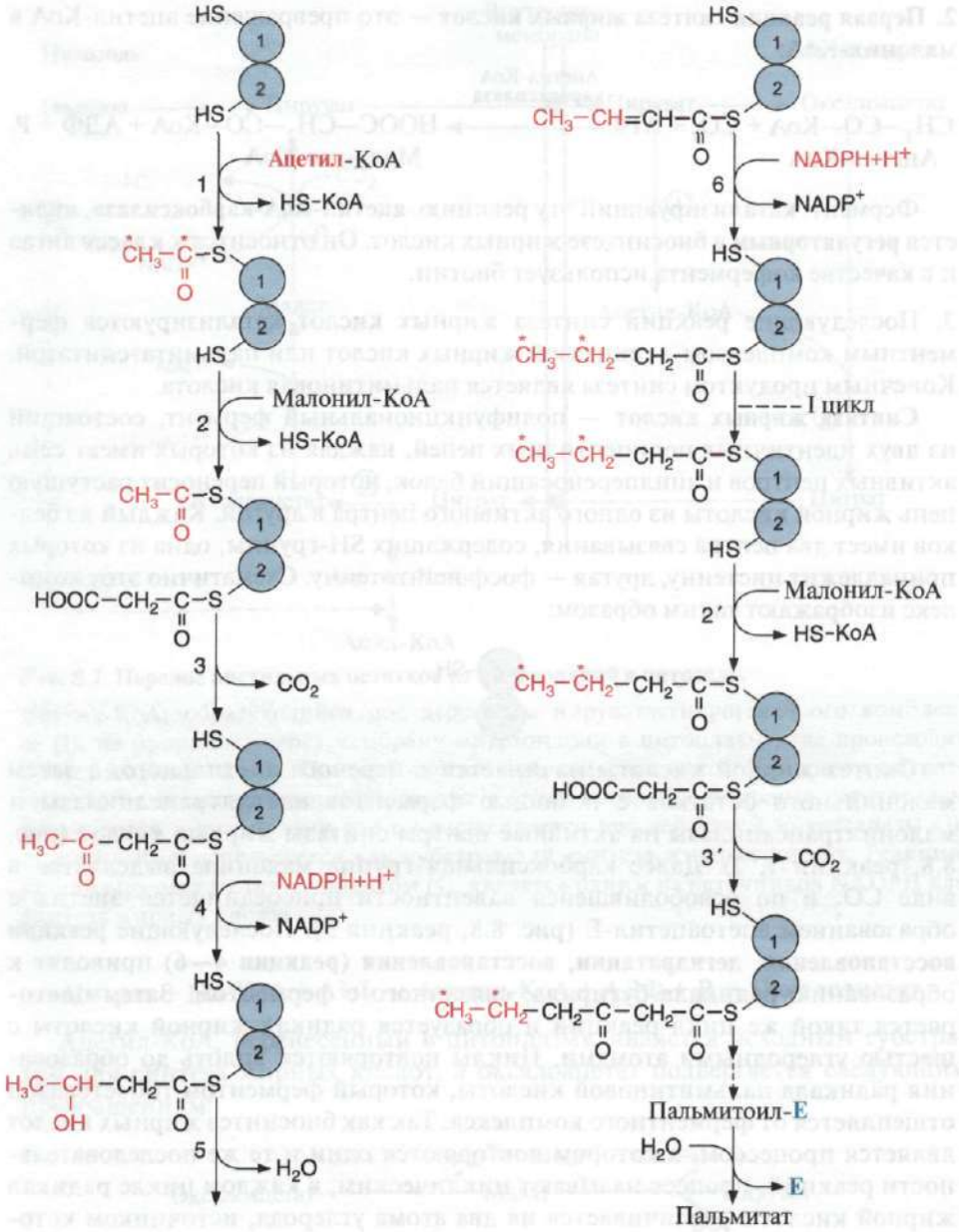


Рис. 8.8. Синтез пальмитиновой кислоты.

Пальмитоил-Е — остаток пальмитиновой кислоты, связанный с синтазой жирных кислот. Пальмитиновая кислота отделяется от ферментного комплекса тиоэстеразой. В синтезированной жирной кислоте только два дистальных атома углерода (CH_3 и соседний с ним), выделенные красным цветом, происходят из ацетил-КоА, остальные атомы углерода включаются в радикал жирной кислоты из молекул малонил-КоА

Рис. 8.9. Этапы синтеза пальмитиновой кислоты

Реакции восстановления обеспечивают синтез насыщенного алифатического радикала жирных кислот

4. Другие жирные кислоты в организме человека синтезируются из пальмитиновой кислоты. Удлинение углеродного скелета происходит также с использованием малонил-КоА. Таким образом синтезируется, например, стеариновая кислота. В организме человека возможен синтез ненасыщенных кислот, однако двойная связь может быть образована у 9 атома углерода ($C_{16:1}$ Δ9) и между карбонильной группой и C_9. В организме человека **не синтезируются жирные кислоты** с двойными связями, расположенными дистальнее C_9, поэтому полиеновые жирные кислоты с двойными связями между C_9 и метильной группой являются **эссенциальными** и их необходимо получать с пищей. Для обеспечения потребностей организма в эссенциальных жирных кислотах суточная норма жиров (≈80—100 г) должна на треть состоять из жиров растительного происхождения.

Образованные жирные кислоты не остаются в клетках в свободном виде, а используются для синтеза жиров и фосфолипидов. Жиры, синтезированные в жировой ткани, запасаются в ней, а жиры, синтезированные в печени, упаковываются в ЛПОНП, которые секретируются в кровь.

5. Регуляция синтеза жирных кислот.

Скорость синтеза жирных кислот определяется как активностью регуляторного фермента — **ацетил-КоА-карбоксилазы**, так и зависит от ряда других факторов. Активность ацетил-КоА-карбоксилазы регулируется несколькоми механизмами:

- после еды в абсорбтивный период под действием гормона инсулина активируется фермент фосфатаза, который переводит ацетил-КоА-карбоксилазу в дефосфорилированную активную форму (рис. 8.10). Цитрат активирует ассоциацию дефосфорилированных протомеров, и фермент становится активным (рис. 8.11);

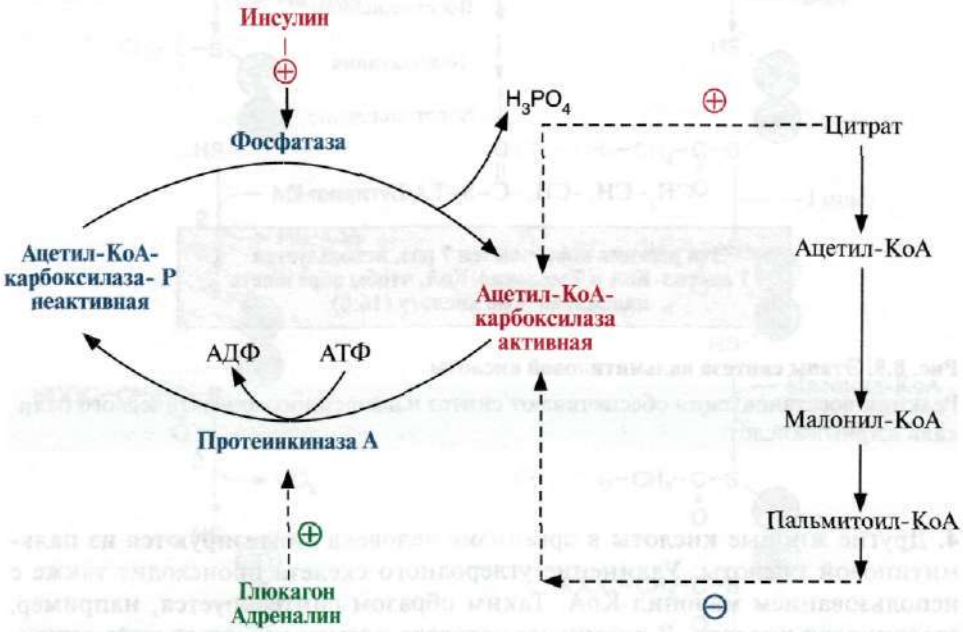


Рис. 8.10. Регуляция ацетил-КоА-карбоксилазы

В абсорбтивный период инсулин стимулирует дефосфорилирование ацетил-КоА-карбоксилазы, цитрат активирует объединение протомеров и фермент становится активным. При голодании (под действием глюкагона) и при физической работе (под действием адреналина) фермент фосфорилируется и становится неактивным

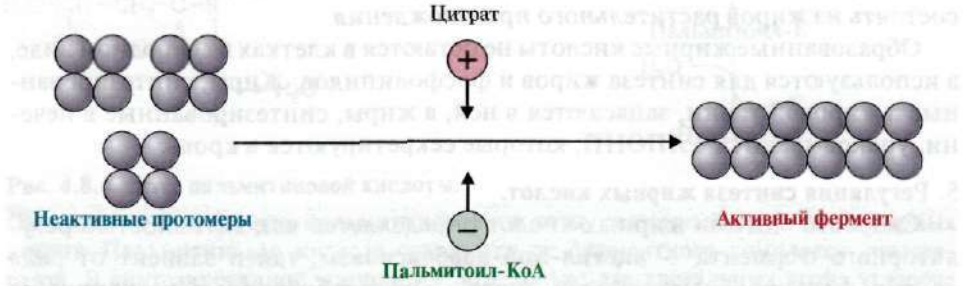


Рис. 8.11. Регуляция ацетил-КоА-карбоксилазы путем ассоциации (диссоциации) протомеров

- инсулин не только активирует регуляторный фермент ацетил-КоА-карбоксилазу, но и **индуцирует его синтез и синтез ряда других ферментов**, участвующих в превращении продуктов катаболизма глюкозы в жирные кислоты (рис. 8.12). Поэтому длительное избыточное потребление углеводов активирует синтез жирных кислот и жиров, что ведет к ожирению;
- при голодании или физической работе гормоны глюкагон или адреналин, активируя аденилатциклазную систему, переводят ацетил-КоА-карбоксилазу в фосфорилированную неактивную форму. Пальмитоил-КоА — конечный продукт синтеза — стимулирует диссоциацию протомеров, ускоряя инактивацию фермента.

Таким образом, в результате гормональной регуляции синтез жирных кислот активируется в абсорбтивный период (после еды) и ингибируется при голодании и физической работе, причем это происходит не только за счет изменения активности ферментов, но и путем индукции или репрессии ферментов, участвующих в синтезе жирных кислот из углеводов (рис. 8.12).

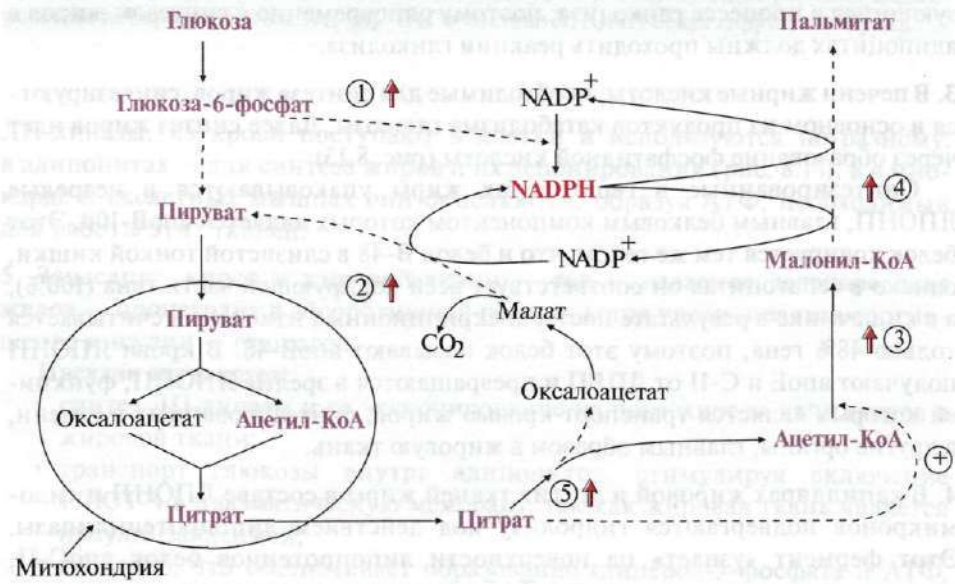


Рис. 8.12. Синтез жирных кислот из продуктов катаболизма глюкозы

(↑ — индуцируемый фермент)

При длительном избыточном потреблении углеводов под действием гормона инсулина происходит индукция синтеза ферментов, участвующих как в образовании субстратов синтеза жирных кислот, так и непосредственно в их синтезе: 1 — глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа, 2 — малик-фермент, 3 — ацетил-КоА-карбоксилаза, 4 — синтаза жирных кислот, 5 — цитратлиаза

ТЕМА 8.5. БИОСИНТЕЗ ЖИРОВ В ПЕЧЕНИ И ЖИРОВОЙ ТКАНИ. РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА ЖИРОВ

1. Жиры — наиболее компактная форма запасания энергетического материала, поэтому избыточное количество углеводов, получаемых с пищей, перерабатывается в жиры и запасается в адипоцитах. Синтез жиров происходит в абсорбтивный период и стимулируется инсулином. Наиболее активно синтез жиров происходит в печени, жировой ткани и лактирующей молочной железе.

2. Для синтеза жиров необходимы глицерол в виде глицерол-3-фосфата (рис. 8.13) и активные формы жирных кислот — ацил-КоА. Глицерол вначале должен превратиться в глицерол-3-фосфат. В печени глицерол-3-фосфат образуется двумя путями:

а) при восстановлении дигидроксиацетонфосфата (метаболита гликолиза);

б) при фосфорилировании глицеролкиназой свободного глицерола, попадающего в печень из крови.

В жировой ткани фермент глицеролкиназа отсутствует и единственным источником глицерол-3-фосфата является дигидроксиацетонфосфат, образующийся в процессе гликолиза, поэтому одновременно с синтезом жиров в адипоцитах должны проходить реакции гликолиза.

3. В печени жирные кислоты, необходимые для синтеза жиров, синтезируются в основном из продуктов катаболизма глюкозы. Далее синтез жиров идет через образование фосфатидной кислоты (рис. 8.13).

Синтезированные в гепатоцитах жиры упаковываются в незрелые ЛПОНП, главным белковым компонентом которых является апоВ-100. Этот белок кодируется тем же геном, что и белок В-48 в слизистой тонкой кишки, однако в гепатоцитах он соответствует всей кодирующей части гена (100%), а в кишечнике в результате посттранскрипционных изменений считывается только 48% гена, поэтому этот белок называют апоВ-48. В крови ЛПОНП получают апоЕ и С-II от ЛПВП и превращаются в зрелые ЛПОНП, функцией которых является транспорт кровью жиров, синтезированных в печени, в другие органы, главным образом в жировую ткань.

4. В капиллярах жировой и других тканей жиры в составе ЛПОНП и хиломикронов подвергаются гидролизу под действием липопротеинлипазы. Этот фермент «узнает» на поверхности липопротеинов белок апоС-II, активируется им и гидролизует ТАГ, входящие в состав липопротеинов, до глицерола и жирных кислот. В разных тканях находятся изоформы ЛП-липазы, отличающиеся значениями K_m. **В капиллярах жировой ткани значение K_m выше** — следовательно, этот фермент активно работает при высокой концентрации липопротеинов в крови в абсортивный период; в мышцах K_m ниже — следовательно, мышцы могут утилизировать жирные кислоты, освобождающиеся из липопротеинов, и при более низкой их концентрации в крови. Жирные кислоты, освободившиеся под действием

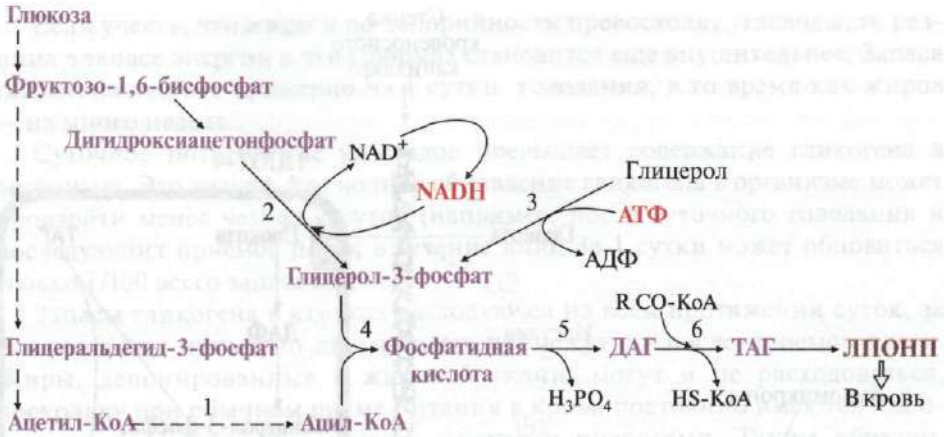


Рис. 8.13. Синтез жиров в печени

Синтез жиров в печени происходит в основном из продуктов катаболизма глюкозы. После еды образующийся в результате гликолиза избыток ацетил-КоА активно используется для синтеза жирных кислот (1). Глицерол-3-фосфат образуется двумя путями (2, 3). Синтез ТАГ происходит через образование фосфатидной кислоты (4), при дефосфорилировании которой образуется ДАГ (5). Следующая реакция ацилирования превращает его в ТАГ (6). ТАГ в составе ЛПОНП секретируются в кровь

ЛП-липазы, из крови поступают в клетки и используются по-разному: в адипоцитах — для синтеза жиров и их депонирования (рис. 8.14), а в миокарде и скелетных мышцах они окисляются, образуя АТФ, необходимый для работы этих тканей.

5. Запасание жиров в жировой ткани — так называемое **депонирование жиров** — происходит в абсорбтивный период, когда увеличивается соотношение инсулин — глюкагон.

Инсулин активирует:

- синтез ЛП-липазы и ее экспонирование на поверхности капилляров в жировой ткани;
- транспорт глюкозы внутрь адипоцитов, стимулируя включение ГЛЮТ-4 в плазматическую мембрану, так как жировая ткань является инсулинзависимой;
- гликолиз, что обеспечивает образование глицерол-3-фосфата и АТФ, необходимых для синтеза жиров;
- пентозофосфатный путь, в ходе которого восстанавливается $NADP^+$, необходимый для синтеза жирных кислот.

6. Сравнение гликогена и жиров как запасаемых энергоносителей. По существу роль гликогена и жиров в организме одинакова — это формы запасания энергии. Однако между ними есть и значительные различия как в количественном, так и в функциональном отношении.

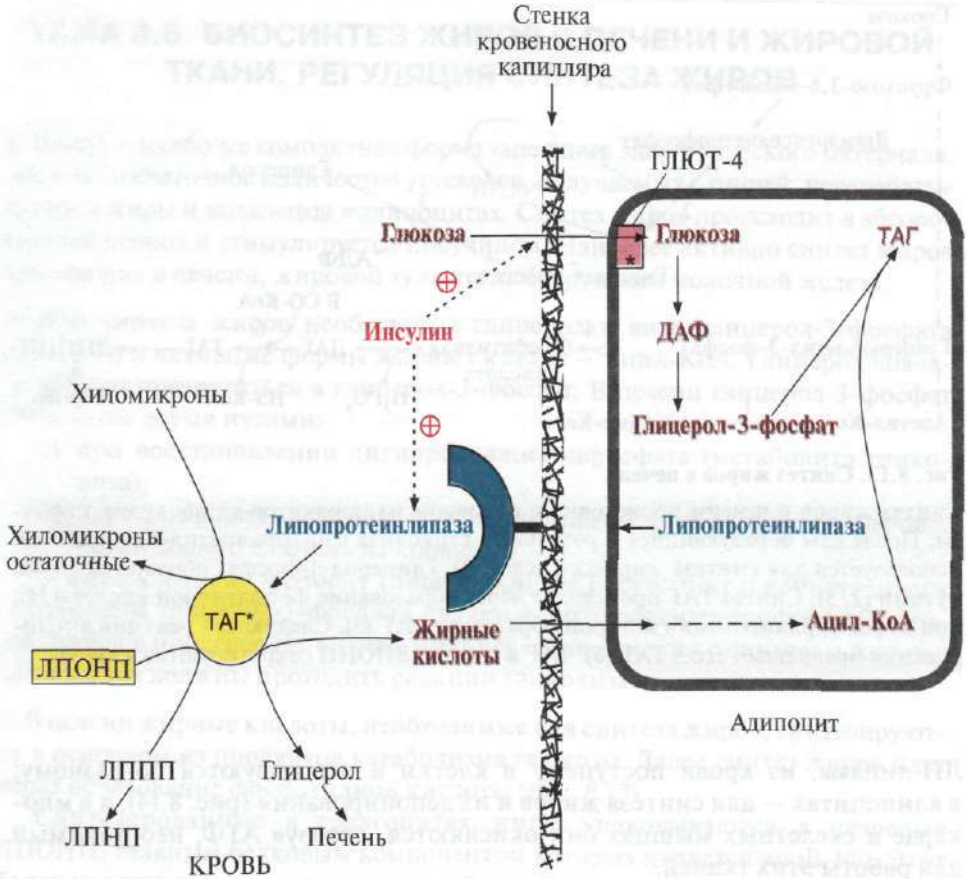


Рис. 8.14. Депонирование жира в адипоцитах в абсорбтивный период

ТАГ* — жиры в составе хиломикронов и ЛПОНП; * — ГЛЮТ-4 в мембране адипоцитов.

В отличие от печени для синтеза жиров в адипоцитах используются преимущественно жирные кислоты, освободившиеся под действием ЛП-липазы из ХМ, ЛПОНП и ЛППП крови. *Инсулин стимулирует синтез жиров путем индукции синтеза и экспонировании ЛП-липазы в капиллярах жировой ткани и увеличивает транспорт глюкозы, активируя ГЛЮТ-4 и ускоряя таким образом перенос глюкозы в адипоциты*

Жиров в организме содержится в приблизительно в 30 раз больше, чем гликогена (табл. 8.5.)

Таблица 8.5. Гликоген и жиры в организме человека

Параметр, кг	Гликоген	Жиры
Содержание в организме	0,3	10
Суточное потребление	~0,4	0,1

Если учесть, что жиры и по калорийности превосходят углеводы, то разница в запасе энергии в этих формах становится еще внушительнее. Запаса гликогена хватает примерно на 1 сутки голодания, в то время как жиров — на много недель.

Суточное потребление углеводов превышает содержание гликогена в организме. Это значит, что полное обновление гликогена в организме может произойти менее чем за 2 суток (например, после суточного голодания и последующих приемов пищи в течение дня). За 1 сутки может обновиться только 1/100 всего запаса жиров.

Запасы гликогена в клетках расходуются на всем протяжении суток, за исключением примерно двухчасовых промежутков после приемов пищи. Жиры, депонированные в жировой ткани, могут и не расходоваться, поскольку при обычном ритме питания в крови постоянно имеются липопротеины, снабжающие органы жирными кислотами. Таким образом, можно считать, что липопротеины выполняют не только транспортную функцию, но и функцию краткосрочного запасания жиров. По роли в энергетическом обмене жиры липопротеинов (хиломикронов и ЛПОНП) в большей мере сходны с гликогеном, чем жиры, депонированные в жировой ткани.

Важной особенностью жиров является то, что при их гидролизе образуется два функционально различных продукта — жирные кислоты и глицерол. Глицерол используется для глюконеогенеза (наряду с аминокислотами) и тем самым участвует в обеспечении глюкозой клеток мозга и других глюкозозависимых клеток при голодании, а окисление жирных кислот является источником АТФ для многих тканей.

ТЕМА 8.6. ОЖИРЕНИЕ

1. Ожирение — это увеличение отложения жира в адипоцитах по сравнению с нормой. В норме у человека с массой тела около 70 кг количество жира в депо составляет около 10—11 кг. Важной характеристикой содержания жира в организме является индекс массы тела (ИМТ), который рассчитывается по формуле:

$$\text{ИМТ} = \frac{\text{Вес, кг}}{\text{Рост, м}^2}.$$

Нормальное значение ИМТ лежит в пределах 20—24,9 кг/м^2. При значениях 25—29,9 кг/м^2 человек имеет избыточный вес, а значения >30 указывают на ожирение.

Ожирение очень распространено: оно наблюдается почти у 50% людей старше 50 лет.

При развитии ожирения сначала увеличивается размер адипоцитов, но при дальнейшем увеличении количества жира, когда существующие адипоциты заполнены, преадипоциты могут дифференцироваться в дополнительные адипоциты. В норме количество адипоцитов после рождения до 22—25 лет

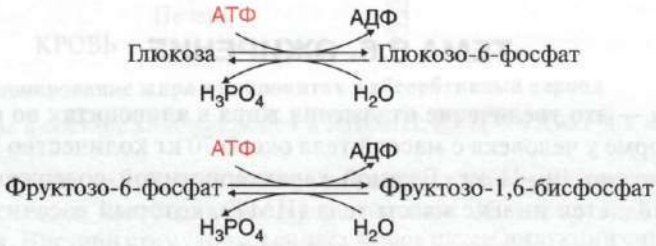
увеличивается в среднем в пять раз. Постоянное переедание, особенно в раннем возрасте, приводит к гиперплазии адипоцитов и к развитию тяжелых форм ожирения. При лечении ожирения наблюдают уменьшение количества жиров в адипоцитах, но количество самих адипоцитов практически не изменяется.

2. Первичное ожирение развивается в результате алиментарного дисбаланса — избыточной калорийности питания по сравнению с расходами энергии. Количество потребляемой пищи зависит от многих факторов, в том числе и от регуляции чувства голода и насыщения. Чувство голода и насыщения определяются концентрацией в крови глюкозы, а также некоторых аминокислот и гормонов, которые инициируют чувство насыщения — холецистокинина, нейротензина, бомбезина, лептина.

Важным социальным фактором развития первичного ожирения является нерациональное гиперкалорийное питание в семье, потребление продуктов *fast food*, обладающих избыточной калорийностью и низким содержанием ценных питательных веществ.

3. Генетические факторы в развитии ожирения. Метаболические различия между тучными и худыми людьми до настоящего времени не могут быть определены однозначно. Имеется несколько теорий, объясняющих эти различия:

1) генетически детерминированная разница в функционировании бесполезных циклов. Эти циклы состоят из пары метаболитов, которые превращаются друг в друга с помощью двух ферментов. Одна из этих ферментативных реакций идет с затратой АТФ. Например:



Если прямая и обратная реакции субстратных циклов протекают одновременно, то происходит бесполезный расход АТФ и, соответственно, источников энергии. В этом случае количество продуктов катаболизма глюкозы, доступное для синтеза жиров, уменьшается и, следовательно, тормозится синтез жиров;

2) у людей, склонных к ожирению, вероятно, имеется более прочное сопряжение дыхания и окислительного фосфорилирования, т.е. более эффективный метаболизм;

3) у худых и тучных людей возможно разное соотношение аэробного и анаэробного гликолиза. При анаэробном гликолизе, как менее эффективном, «сжигается» гораздо больше глюкозы, в результате чего снижается ее переработка в жиры.

4. У человека и животных имеется ген ожирения — *obese gene*. Мутации в этом гене приводят к развитию ожирения. Продуктом экспрессии гена ожирения является белок ob. Тривиальное название этого белка «лептин» (от греч. «тонкий, худой»). Он состоит из 145 аминокислот и секретируется в кровь адипоцитами. Получены доказательства того, что лептин действует как гормон, контролирующий массу жировой ткани. К настоящему времени описаны пять мутаций в гене лептина, которые ассоциируются с фенотипом ожирения. Для этого фенотипа характерны повышенное отложение жиров в жировой ткани, чрезмерное потребление пищи, низкая физическая активность и развитие сахарного диабета II типа. Патогенез ожирения при дефекте гена ob может быть следующим: низкий уровень лептина в крови является сигналом недостаточного количества запаса жиров в организме. Этот сигнал включает механизмы, приводящие к повышению аппетита и, в результате, к увеличению массы тела. Однако ожирение у человека является полигенным заболеванием и может быть вызвано различными причинами. Даже если жировые клетки продуцируют достаточное количество лептина, ожирение может развиваться в результате снижения чувствительности рецепторов к лептину: создается более высокий порог чувствительности к концентрации лептина, прежде чем включаются механизмы, приводящие к снижению массы тела.

5. Вторичное ожирение — это тип ожирения, которое развивается в результате какого-либо основного заболевания, чаще всего эндокринного, например гипотиреоза.

Ожирение является фактором развития многих заболеваний, таких как сахарный диабет II типа, гипертоническая болезнь, атеросклероз. Комплекс заболеваний, причина которых — увеличение массы жировой ткани, объединяется в понятие «метаболический синдром». У людей с ожирением в крови увеличена концентрация жирных кислот, холестерола и жиров.

Адипоциты являются не только тканью, аккумулирующей жиры, но и клетками, выделяющими различные гормоны (кроме лептина) и цитокины. Нарушение баланса этих веществ при ожирении приводит к развитию инсулинрезистентности тканей и к развитию сахарного диабета.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Напишите реакцию, катализируемую регуляторным ферментом метаболического пути биосинтеза жирных кислот. Изобразите формулу кофермента, участвующего в этой реакции, и опишите его функцию в реакции.

2. Используя рис. 8.7 и 8.10, напишите схемы реакций, показывающих роль цитрата в биосинтезе жирных кислот.

3. Напишите суммарное уравнение биосинтеза пальмитиновой кислоты и подсчитайте количество циклов, необходимых для ее синтеза.

4. Рассчитайте, сколько молей АТФ необходимо затратить для синтеза пальмитиновой кислоты. Изобразите реакцию, которая идет с затратой АТФ.

5. Запишите реакции, происходящие с участием NADPH в первом цикле биосинтеза жирных кислот.

6. Перенесите в тетрадь табл. 8.6 и заполните в ней колонку «Биосинтез», отражающие основные характеристики биосинтеза жирных кислот.

Таблица 8.6. Сравнение процессов биосинтеза и β-окисления жирных кислот

Процесс	Биосинтез	β-Окисление
Локализация процесса		
Исходный субстрат		
Переносчик субстрата через митохондриальную мембрану		
Коферменты окислительно-восстановительных реакций		
Источник присоединяемого фрагмента или отщепляемый фрагмент		
Регуляторные ферменты		
Регуляторные факторы: активаторы		
ингибиторы		

7. Используя рис. 8.12, выпишите названия ферментов, участвующих в превращении продуктов катаболизма глюкозы в жирные кислоты, синтез которых индуцируется инсулином.

А.
Б.
В.
Г.
Д.

8. Запишите названия ферментов, выполняющих следующие функции:

а) освобождает исходный субстрат для синтеза жирных кислот в цитоплазме клетки;
б) восстанавливают $NADP^+$;
в) катализирует циклические превращения, приводящие к удлинению углеродной цепи жирных кислот;
г) регуляторный фермент биосинтеза жирных кислот.

9. Перенесите табл. 8.7 в тетрадь и сравните особенности биосинтеза жиров в различных тканях.

Таблица 8.7. Особенности биосинтеза жиров в различных тканях

Ткань	Исходные субстраты синтеза	Тип липопротеина, транспортирующего жир из органа
Слизистая оболочка тонкой кишки		
Печень		
Жировая ткань		

10. Опишите изменения в обмене жиров у человека, получившего с пищей 300 г углеводов. Для этого:

а) назовите гормон, определяющий состояние обмена жиров через 2часа после приема пищи;

б) перерисуйте в тетрадь рис. 8.15. Вместо номера в схеме впишите соответствующее вещество из перечисленных ниже:

А. Фосфатидная кислота
Б. Ацетил-КоА
В. Малонил-КоА
Г. ТАГ
Д. Дигидроксиацетонфосфат
Е. ДАГ

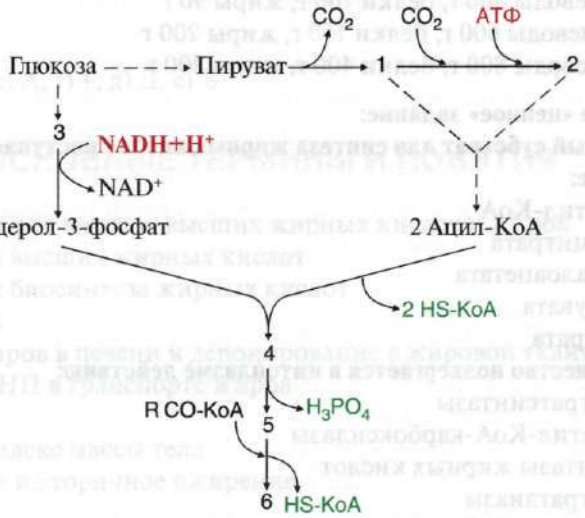


Рис. 8.15 Синтез жиров из углеводов в печени

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Установите соответствие.

Источники кислоты:

А. Образуется в организме из пальмитиновой кислоты
Б. Должна поступать с пищей, так как не синтезируется в организме
В. Может синтезироваться из незаменимой кислоты, поступающей с пищей
Г. Является основной жирной кислотой, синтезируемой в организме
Д. Основная жирная кислота в составе молочного жира

Жирная кислота

1. 18:2 Δ(9, 12)
2. 18:0
3. 20:4 Δ(5, 8, 11, 14)

2. Выберите правильные ответы.

Синтез жирных кислот будет увеличиваться при:

А. Повышении концентрации глюкозы в крови после еды
Б. Снижении секреции инсулина
В. Увеличении секреции глюкагона
Г. Дефосфорилировании ацетил-КоА-карбоксилазы
Д. Накоплении цитрата

3. Пищевая потребность взрослого человека при умеренной физической активности составляет:

А. Углеводы 250 г, белки 120 г, жиры 150 г
Б. Углеводы 500 г, белки 50 г, жиры 120 г
В. Углеводы 400 г, белки 100 г, жиры 90 г
Г. Углеводы 600 г, белки 150 г, жиры 200 г
Д. Углеводы 800 г, белки 400 г, жиры 200 г

4. Выполните «цепное» задание:

а) исходный субстрат для синтеза жирных кислот поступает в цитоплазму в составе:

А. Ацетил-КоА
Б. Изоцитрата
В. Оксалоацетата
Г. Пирувата
Д. Цитрата

б) это вещество подвергается в цитоплазме действию:

А. Цитратсинтазы
Б. Ацетил-КоА-карбоксилазы
В. Синтазы жирных кислот
Г. Цитратлиазы
Д. Пируваткарбоксилазы

в) продукт этого фермента непосредственно превращается в:

А. Малонил-КоА
Б. Ацил-КоА
В. Бутирил-КоА
Г. Ацетоацил-КоА
Д. Еноил-КоА

г) это вещество переносится на синтазу жирных кислот с помощью:

А. Ацетилтрансацилазы
Б. Ацилкарнитинтрансферазы
В. Пируваткиназы
Г. Малонилтрансацилазы
Д. Цитратсинтазы

д) продукт этого фермента далее участвует в реакции:

А. Дегидратации
Б. Восстановления
В. Гидратации

Г. Дегидрирования
Д. Конденсации

е) в ходе этой реакции образуется радикал:

А. Пальмитоил
Б. Ацетоацетил
В. β-Гидроксибутирил
Г. Еноил
Д. Ацетил

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. 1—Б, 2—А, 3—В
2. А, Г, Д
3. В
4. а) Д, б) Г, в) А, г) Г, д) Д, е) Б

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Субстраты для синтеза высших жирных кислот и жиров
2. Биосинтез высших жирных кислот
3. Регуляция биосинтеза жирных кислот
4. Липогенез
5. Синтез жиров в печени и депонирование в жировой ткани
6. *Роль ЛПОНП в транспорте жиров*
7. Лептин
8. ИМТ — индекс массы тела
9. Первичное и вторичное ожирение

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. *В клетках, где идет синтез жирных кислот, одновременно должен осуществляться* и пентозофосфатный путь (ПФП) катаболизма глюкозы. Объясните взаимосвязь между этими процессами. Для этого:

1) укажите кофермент, который поставляет ПФП для реакций синтеза жирных кислот, и напишите реакции, протекающие с его участием;
2) напишите реакции ПФП, в которых этот кофермент восстанавливается;
3) напишите другие реакции, поставляющие этот кофермент для биосинтеза жирных кислот;
4) объясните, почему при синтезе жирных кислот используется большое количество этого кофермента.

2. Олеиновая кислота содержится в организме в довольно больших количествах как в составе ТАГ, так и в составе глицерофосфолипидов. Напишите *реакции синтеза олеиновой кислоты из пальмитиновой, используя рис. 8.43* (учебник «Биохимия» под ред. Е.С. Северина, 2003)

Решите задачи

1. Пациент А с низкой физической активностью, имеющий избыточный вес, ежедневно в течение двух недель получал пищу, которая содержала 600 г углеводов, 100 г жиров, 120 г белков. Пациент Б того же возраста, имеющий нормальный вес, получал пищу, содержащую 300 г углеводов, 80 г жиров и 100 г белков, и выполнял умеренную физическую работу. Опишите разницу в метаболизме этих пациентов, выполнив задания:

а) объясните, какие отличия в соотношении инсулин — глюкагон в течение суток наблюдаются у этих пациентов;

б) напишите реакцию, катализируемую регуляторным ферментом синтеза жирных кислот;

в) представьте схемы, объясняющие возможные механизмы регуляции этого фермента;

г) напишите краткие схемы метаболических путей, активность которых повышена у пациента А по сравнению с пациентом Б.

2. Экспериментальные животные получали с пищей только глюкозу, содержащую радиоактивные атомы углерода. Через несколько часов исследовали жиры, содержащиеся в адипоцитах, и обнаружили радиоактивный углерод и в составе глицерола и радикалов жирных кислот. Объясните это, написав соответствующие схемы.

3. После еды, содержащей 300 г углеводов, 30 г жиров и 100 г белков, человек находится в состоянии покоя в течение 2 часов. Как изменится обмен веществ в печени и жировой ткани в этих условиях? При ответе:

а) напишите необходимые схемы;

б) укажите состав липопротеинов крови через 2 часа после еды, нарисовав соответствующую липидограмму;

в) изобразите схему транспорта жиров кровью в данной ситуации.

4. При обследовании пациентов, страдающих первичным ожирением, часто наблюдается гипертриацилглицеролемия, у них повышена концентрация ЛПОНП. Как можно объяснить изменения в составе крови у этих пациентов? При ответе:

а) дайте определение первичного ожирения;

б) укажите причины первичного ожирения;

в) напишите схему, объясняющую увеличение ТАГ и ЛПОНП в сыворотке крови пациентов;

г) укажите возможные последствия ожирения.

5. Рассчитайте свой ИМТ, сравните его с нормой, сделайте заключение о его величине и дайте себе рекомендации по питанию.

Модульная единица 3
ЖИРЫ, ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА КАК ИСТОЧНИКИ ЭНЕРГИИ. ЭЙКОЗАНОИДЫ, СТРОЕНИЕ, СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ

Цели изучения

Уметь:

1. *Использовать знания о мобилизации жиров и β-окислении жирных* кислот для понимания механизмов обеспечения энергией организма при голодании, физической работе, переохлаждении.
2. *Применять знания о механизмах синтеза и использования кетоновых* тел как дополнительного источника энергии при голодании, физической работе, сахарном диабете.
3. Интерпретировать результаты биохимических исследований крови и мочи при кетонемии и кетонурии.
4. Использовать знания о синтезе и биологических эффектах эйкозаноидов для понимания механизмов регуляции тонуса гладкой мускулатуры, свертывания крови, воспаления и для понимания действия лекарственных препаратов, влияющих на эти процессы.

Знать:

1. Механизмы гормональной регуляции мобилизации жиров.
2. Реакции β-окисления жирных кислот, расчет выхода АТФ.
3. Реакции синтеза и окисления кетоновых тел, причины и механизмы развития кетоацидоза.
4. Биологическую роль полиеновых кислот как предшественников эйкозаноидов.
5. Основные этапы синтеза эйкозаноидов, их биологические эффекты, механизмы действия лекарств — ингибиторов синтеза эйкозаноидов.

ТЕМА 8.7. МОБИЛИЗАЦИЯ ЖИРА. ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МОБИЛИЗАЦИИ ЖИРОВ

1. Жиры, депонированные в адипоцитах в абсорбтивный период, используются *как источник энергии в период голодания и при длительной физи*ческой работе. Жиры являются самыми высококалорийными веществами в организме, так как жирные кислоты, входящие в их состав, являются наиболее восстановленными молекулами (т.е. содержащими много связей $—CH_2—$), при окислении которых выделяется большое количество энергии. Так, при окислении 1 г жиров выделяется 9,7 ккал, а 1 г углеводов — 4,7 ккал.

2. Мобилизация жира происходит в основном под действием гормонов глюкагона и адреналина и представляет собой гидролиз жира в адипоцитах до жирных кислот и глицерола ферментом — гормончувствительной

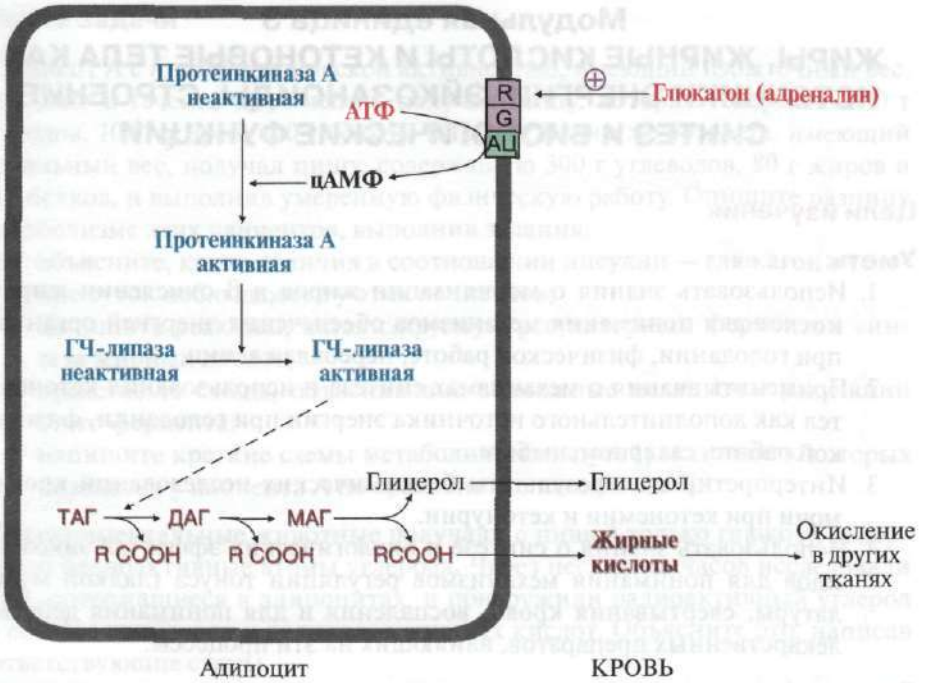


Рис. 8.16. Мобилизация жира из жировых депо

ГЧ-липаза — гормончувствительная липаза (ТАГ-липаза).

После отделения первой жирной кислоты под действием ТАГ-липазы остальные сложноэфирные связи в ДАГ и МАГ гидролизуются другими липазами

липазой **(или ТАГ-липазой)** (рис. 8.16). Этот фермент находится в адипоцитах и активируется путем фосфорилирования через аденилатциклазную систему. Кроме гормончувствительной липазы, в регуляции мобилизации жиров участвует и белок **перилипин**, который в дефосфорилированной форме покрывает капли жира в адипоцитах (рис. 8.17), а при фосфорилировании отделяется от них, и молекулы ТАГ становятся доступными действию гормончувствительной липазы.

Мобилизация жиров стимулируется также норадреналином, секретируемым симпатическими нервными окончаниями при физической работе и стрессе и передающим сигнал через аденилатциклазную систему. Действие норадреналина через синапсы более эффективно, чем действие циркулирующего в крови адреналина.

3. В результате мобилизации жиров концентрация жирных кислот в крови увеличивается приблизительно в два раза. Время полужизни жирных кислот *очень мало (менее 5 минут); это означает, что существует быстрый поток* жирных кислот из жировой ткани к другим органам. Жирные кислоты, как гидрофобные молекулы, транспортируются кровью в периферические ткани *в комплексе с белком альбумином, имеющим центры связывания гидрофоб*ных молекул.

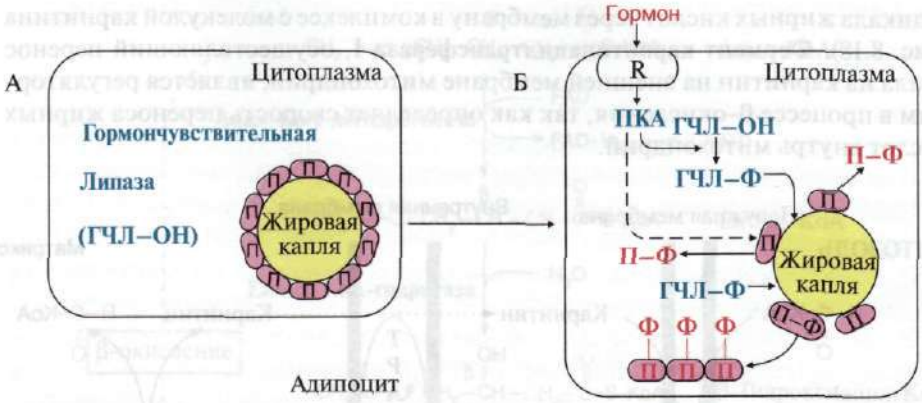


Рис. 8.17. Роль перилипина в регуляции мобилизации жиров из жировой ткани

А — до действия глюкагона; Б — после действия гормона

Перилипин (П) фосфорилируется протеинкиназой А и отделяется от жировой капли. Фосфорилированная гормончувствительная липаза (ГЧЛ) получает доступ к *субстрату — ТАГ и начинает их гидролиз. П-Ф — перилипин фосфорилированный*

ТЕМА 8.8. β-ОКИСЛЕНИЕ ВЫСШИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ — ИСТОЧНИК ЭНЕРГИИ ДЛЯ СИНТЕЗА АТФ. РЕГУЛЯЦИЯ β-ОКИСЛЕНИЯ

1. Жирные кислоты, как и глюкоза, являются основными «топливными молекулами». Большинство тканей, кроме нервной ткани, эритроцитов (в которых отсутствуют митохондрии), использует жирные кислоты как источник энергии.

Жирные кислоты, проникающие из крови в клетку, сначала подвергаются реакции активации под действием фермента ацил-КоА-синтетазы:

$$RCOOH + HS\text{-}KoA + АТФ \xrightarrow{\text{Ацил-КоА-синтетаза}} R\text{-}CO\text{-}S\text{-}KoA + АМФ + PP_i.$$

Жирные кислоты могут вступать в различные реакции: окисления, синтеза ТАГ или фосфолипидов только в виде КоА-производных.

2. ***β-Окисление жирных кислот*** — это ***специфический путь катаболизма*** жирных кислот, продуктом которого является ацетил-КоА. Название «β-окисление» эти реакции получили потому, что окисление в радикале жирной кислоты происходит по β-углеродному атому. β-Окисление жирных кислот и последующее за ним окисление ацетил-КоА в ЦТК служат источником энергии для синтеза АТФ.

Процесс β-окисления происходит в матриксе митохондрий и только в **аэробных условиях**, так как он связан с ЦПЭ через коферменты дегидрогеназ, водород от которых поступает в ЦПЭ. Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для ацил-КоА, поэтому существует система переноса

радикала жирных кислот через мембрану в комплексе с молекулой карнитина (рис. 8.18). Фермент **карнитинацилтрансфераза I**, осуществляющий перенос ацила на карнитин на внешней мембране митохондрий, является регуляторным в процессе β-окисления, так как определяет скорость переноса жирных кислот внутрь митохондрий.

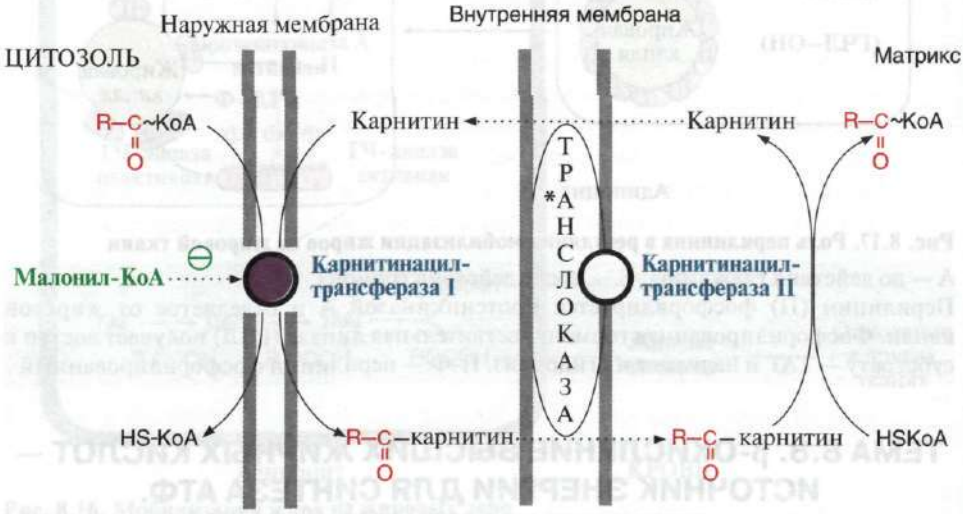


Рис. 8.18. Транспорт высших жирных кислот через мембраны митохондрий

Во внешней мембране митохондрий находится фермент карнитинацилтрансфераза I, который катализирует перенос ацила с КоА на небольшую молекулу — карнитин. Затем ацилкарнитин с помощью транслоказа проходит через внутреннюю мембрану митохондрий, где фермент карнитинацилтрансфераза II переносит ацил на внутримитохондриальный HS-KoA. Фермент карнитинацилтрансфераза I — регуляторный в процессе β-окисления, ингибитором этого фермента является малонил-КоА

3. После того как ацил-КоА попадает в матрикс митохондрий, начинается процесс β-окисления, представляющий собой четыре последовательные реакции, которые заканчиваются укорочением жирной кислоты на два углеродных атома, отделяющиеся в форме ацетил-КоА (рис. 8.19). Эти четыре реакции β-окисления (дегидрирование, гидратация, дегидрирование, отщепление ацетил-КоА) обычно называют «циклом β-окисления», так как имеется в виду, что одни и те же реакции повторяются с радикалом жирной кислоты до тех пор, пока вся кислота не превратится в ацетильные остатки.

Количество молекул АТФ, которые образуются при окислении жирной кислоты, можно рассчитать по формуле:

$$\left[\left(\frac{n}{2}\times 12\right)+\left(\frac{n}{2}-1\right)\times 5\right]-2^{*}=\text{Число моль АТФ/моль жирной кислоты.}$$

2^{*} — энергия двух макроэргических связей АТФ используется на активацию жирной кислоты.

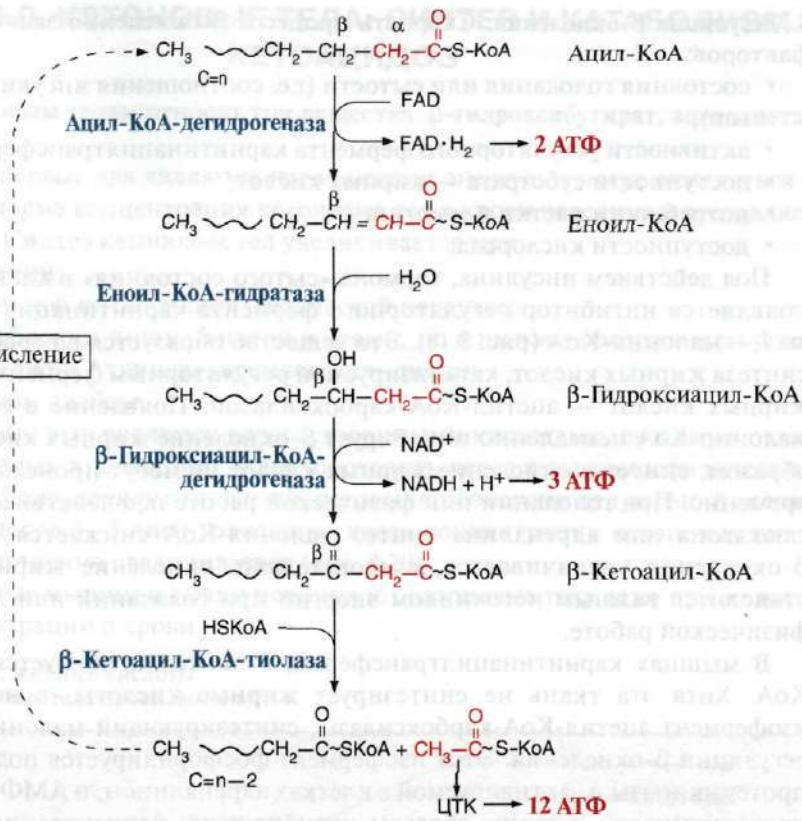


Рис. 8.19. Реакции β-окисления жирных кислот

В каждом цикле образуется ацетил-КоА, который в ЦТК окисляется до CO_2 и воды. Число молекул ацетил-КоА, образующихся в результате окисления жирной кислоты, можно рассчитать по формуле: $\frac{n}{2}$, где *n* — число атомов углерода в жирной кислоте:

- каждая молекула ацетил-КоА далее окисляется в ЦТК, давая энергию для синтеза 12 молекул АТФ: $(\frac{n}{2}) \times 12$ = количество молекул АТФ;
- при β-окислении в каждом цикле происходят две реакции дегидрирования, в которых восстанавливаются одна молекула FAD и одна молекула NAD^+, поэтому каждый цикл дает пять молекул АТФ с участием ЦПЭ;
- число циклов β-окисления на единицу меньше, чем число молекул ацетил-КоА, так как в последний цикл β-окисления всегда вступает бутирил-КоА и при его окислении образуется два ацетил-КоА, а не один, как во всех предыдущих циклах, поэтому число циклов будет равно: $(\frac{n}{2} - 1)$. Общее количество АТФ, образующееся в циклах β-окисления, $(\frac{n}{2} - 1) \times 5$.

4. Регуляция β-окисления. Скорость процесса β-окисления зависит от ряда факторов:

- состояния голодания или сытости (т.е. соотношения инсулин — глюкагон);
- активности регуляторного фермента карнитинацилтрансферазы I;
- доступности субстрата — жирных кислот;
- потребности клетки в энергии;
- доступности кислорода.

Под действием инсулина, гормона «сытого состояния» в клетках печени появляется ингибитор регуляторного фермента карнитинацилтрансферазы I — малонил-КоА (рис. 8.18). Это вещество образуется в первой реакции синтеза жирных кислот, катализируемой регуляторным ферментом синтеза жирных кислот — ацетил-КоА-карбоксилазой. Появление в гепатоцитах малонил-КоА немедленно ингибирует β-окисление жирных кислот, таким образом, синтез и окисление жирных кислот не могут происходить одновременно. При голодании или физической работе под действием гормонов глюкагона или адреналина синтез малонил-КоА снижается и скорость β-окисления увеличивается, следовательно, окисление жирных кислот становится важным источником энергии при голодании или длительной физической работе.

В мышцах карнитинацилтрансфераза I также ингибируется малонил-КоА. Хотя эта ткань не синтезирует жирные кислоты, в ней имеется изофермент ацетил-КоА-карбоксилазы, синтезирующий малонил-КоА для регуляции β-окисления. Этот изофермент фосфорилируется под действием протеинкиназы А, активируемой в клетках адреналином, и АМФ-зависимой протеинкиназой и таким образом ингибируется; концентрация малонил-КоА снижается. Следовательно, при физической работе, когда в клетке появляется АМФ, под действием адреналина активируется β-окисление, однако его скорость зависит еще и от доступности кислорода. Поэтому β-окисление становится источником энергии для мышц только через 10—20 минут после начала физической нагрузки (так называемые аэробные нагрузки), когда приток кислорода к тканям увеличивается.

5. При голодании и физической работе активируется липолиз в жировой ткани и поток жирных кислот в ткани увеличивается. Жирные кислоты становятся важным источником энергии для таких тканей, как скелетные мышцы, миокард, печень. Однако мозг не может использовать жирные кислоты как источник энергии, потому что они не проникают через гематоэнцефалический барьер, являясь гидрофобными молекулами. Поэтому в таких ситуациях, особенно при длительном голодании, печень перерабатывает ~50% поступающих в нее жирных кислот в другие источники энергии — **кетоновые тела**, которые может утилизировать нервная ткань.

ТЕМА 8.9. КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА: СИНТЕЗ И КАТАБОЛИЗМ. КЕТОАЦИДОЗ

1. К кетоновым телам относят три вещества: **β-гидроксибутират, ацетоацетат и ацетон.**

Только первые два являются источниками энергии и могут окисляться в тканях. В норме концентрация кетоновых тел в крови невелика и составляет 1—3 мг/дл. Синтез кетоновых тел увеличивается при:

- голодании;
- длительной интенсивной физической нагрузке;
- употреблении пищи, богатой жирами, но с низким содержанием углеводов (диета Аткинса, «кремлевская» диета);
- сахарном диабете.

Кетоновые тела являются водорастворимыми кислотами, поэтому в отличие от жирных кислот, они могут проходить через гематоэнцефалический барьер и служат, наряду с глюкозой, источником энергии для нервной ткани, особенно после 3—5 дней голодания, когда концентрация кетоновых тел в крови существенно увеличивается (рис. 8.20).

Скелетные мышцы и почки используют кетоновые тела даже при их низкой концентрации в крови.

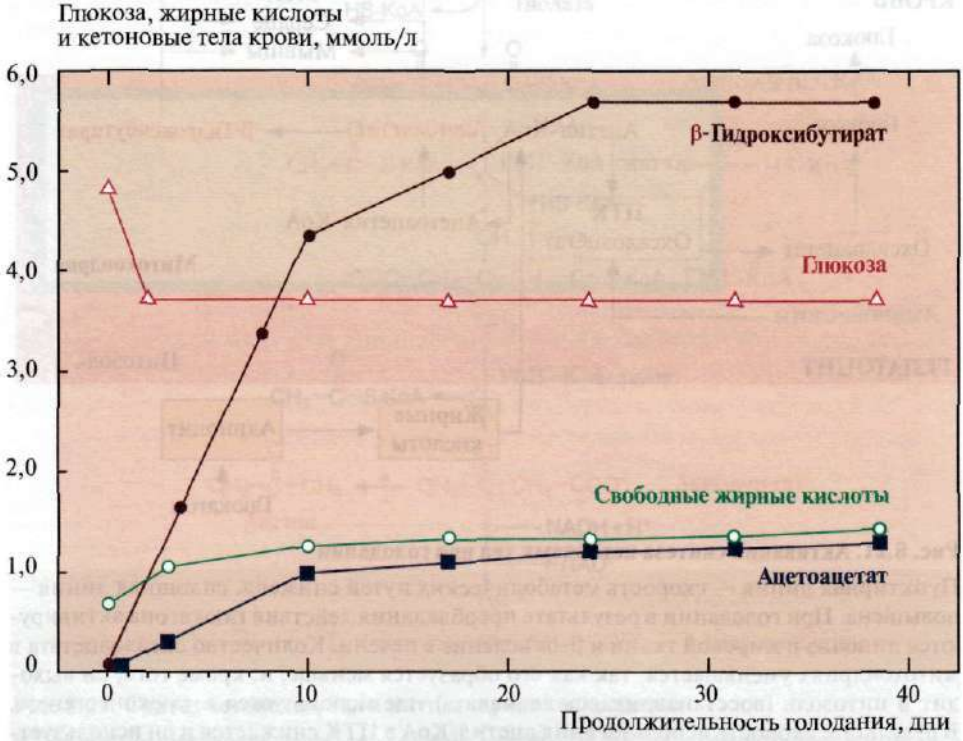


Рис. 8.20. Изменение концентрации глюкозы, жирных кислот и кетоновых тел в плазме крови при голодании

2. Синтез кетоновых тел происходит в митохондриях печени и в небольшом количестве — в корковом слое почек. Исходным субстратом синтеза служит ацетил-КоА, образующийся в результате β-окисления жирных кислот. Ситуация, в которой увеличивается синтез кетоновых тел, развивается следующим образом. При голодании гормон глюкагон (или адреналин при физической работе) через аденилатциклазную систему в жировой ткани активирует распад жира. Жирные кислоты выделяются в кровь и транспортируются в комплексе с альбуминами в печень. В печени увеличивается скорость β-окисления и образуется большое количество ацетил-КоА. Скорость реакций цикла Кребса в этих условиях снижена в результате ингибирования регуляторных ферментов цитратного цикла аллостерическими ингибиторами АТФ и NADH, концентрация которых повышена в результате активного β-окисления. Кроме того, при высокой концентрации NADH оксалоацетат восстанавливается до малата и в такой форме переносится в цитозоль, где реакция идет в обратном направлении. Оксалоацетат становится субстратом для глюконеогенеза и менее доступен для взаимодействия с ацетил-КоА. В результате в митохондриях накапливается ацетил-КоА, который используется для синтеза кетоновых тел (рис. 8.21, 8.22).

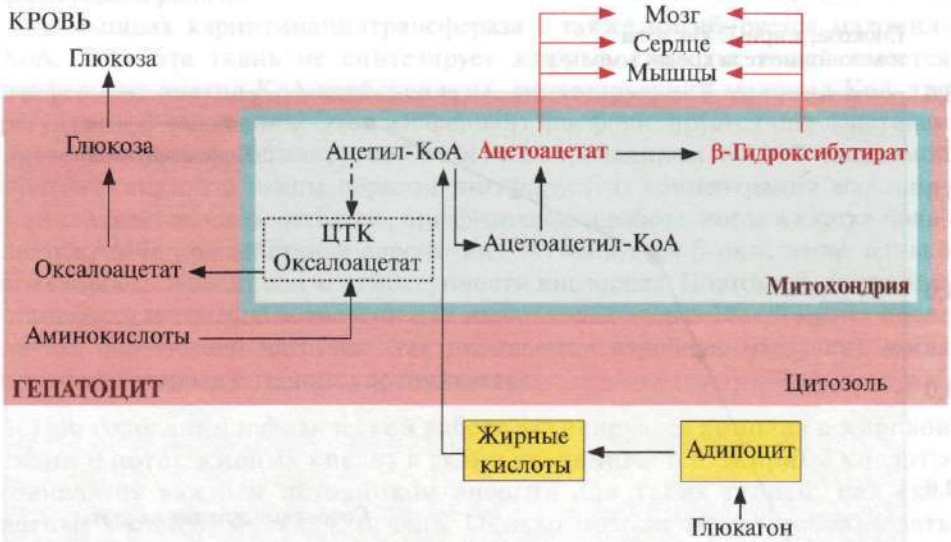


Рис. 8.21. Активация синтеза кетоновых тел при голодании

Пунктирная линия — скорость метаболических путей снижена, сплошная линия — повышена. При голодании в результате преобладания действия глюкагона активируются липолиз в жировой ткани и β-окисление в печени. Количество оксалоацетата в митохондриях уменьшается, так как его образуется меньше, и, кроме того, он выходит в цитозоль (восстанавливаясь до малата), где используется в глюконеогенезе. В результате скорость использования ацетил-КоА в ЦТК снижается и он используется для синтеза кетоновых тел. Синтез кетоновых тел значительно увеличивается при сахарном диабете

Основным кетоновым телом в крови является β-гидроксибутират (*рис. 8.22*), *так как равновесие в реакции Ацетоацетат* ⇄ *β-Гидроксибутират* сдвинуто вправо из-за присутствия высоких концентраций NADH, который восстанавливается в реакциях β-окисления, протекающих, как и синтез кетоновых тел, в матриксе митохондрий. Повышение концентрации кетоновых тел в крови называют **кетонемией**.

3. Регуляция синтеза кетоновых тел осуществляется через фермент ГМГ-КоА-синтазу (рис. 8.22). Этот фермент ингибируется при высоких концентрациях свободного кофермента HS-KoA. Таким образом скорость синтеза кетоновых тел координируется с количеством жирных кислот, поступающих в печень. В ситуациях голодания, сахарного диабета, тяжелой физической работы под действием гормонов глюкагона и адреналина происходит мобилизация ТАГ из жировой ткани, поток жирных кислот в печень увеличивается и HS-KoA связывается с жирными кислотами в ацил-KoA. Концентрация свободного HS-KoA снижается и синтез кетоновых тел увеличивается.

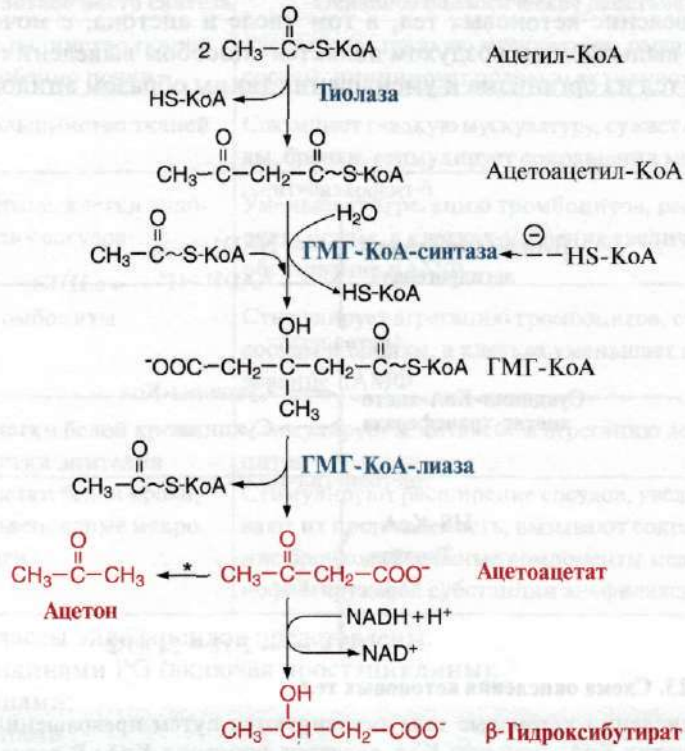


Рис. 8.22. Синтез кетоновых тел в митохондриях гепатоцитов

* — реакция происходит неферментативно только при высокой концентрации ацетоацетата в крови, например при длительном голодании или сахарном диабете

4. Окисление кетоновых тел как источников энергии происходит во многих тканях (рис. 8.23). В печени отсутствует фермент, необходимый для активации кетоновых тел — сукцинил-КоА-ацетоацетаттрансфераза. Поэтому печень не окисляет кетоновые тела и продуцирует их только на «экспорт». Эритроциты, в которых отсутствуют митохондрии, также не используют кетоновые тела.

5. При длительном голодании и особенно при сахарном диабете в крови существенно возрастает концентрация кетоновых тел и организм не успевает их утилизировать. При накоплении кетоновых тел развивается **кетоацидоз**, так как ацетоацетат и β-гидроксибутират — это легко диссоциирующие кислоты:

$$CH_3{-}\underset{\underset{OH}{|}}{CH}{-}CH_2{-}COOH \rightleftharpoons CH_3{-}\underset{\underset{OH}{|}}{CH}{-}CH_2{-}COO^- + H^+.$$

Кетоацидоз является опасным осложнением сахарного диабета. При высоких концентрациях кетоновых тел в крови ацетоацетат неферментативно декарбоксилируется, превращаясь в третье кетоновое тело — **ацетон**. Ацетон не утилизируется как источник энергии и выводится из организма.

Выведение кетоновых тел, в том числе и ацетона, с мочой (**кетонурия**), потом выдыхаемым воздухом является способом выведения избытка кетоновых тел из организма и уменьшения таким образом ацидоза.

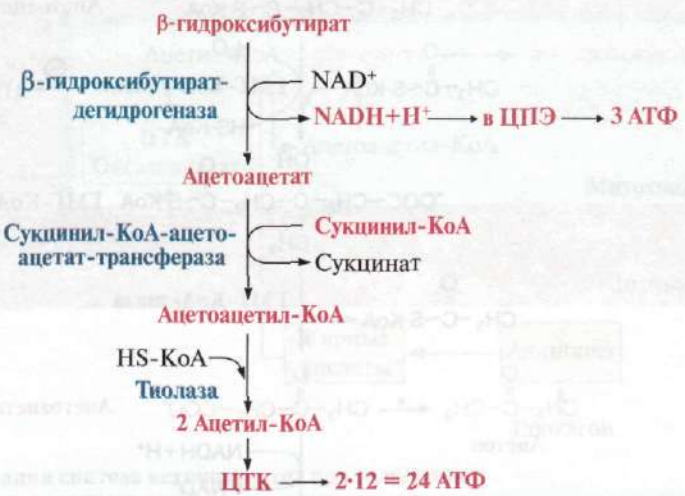


Рис. 8.23. Схема окисления кетоновых тел

При окислении кетоновые тела активируются путем превращения ацетоацетата в ацетоацетил-КоА. Донором КоА является сукцинил-КоА. В результате окисления β-гидроксибутирата образуется 2 ацетил~КоА, которые далее окисляются в ЦТК. Таким образом при окислении β-гидроксибутирата образуется 27 молекул АТФ, но для активации ацетоацетата используется энергия одной макроэргической связи сукцинил-КоА, поэтому теоретический выход АТФ составляет 26 молекул АТФ

ТЕМА 8.10. ПРОИЗВОДНЫЕ ПОЛИЕНОВЫХ КИСЛОТ – ЭЙКОЗАНОИДЫ: СТРОЕНИЕ, БИОСИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

1. Эйкозаноиды — это большая группа веществ, которые могут синтезироваться почти всеми типами клеток, за исключением эритроцитов, и как гормоны местного действия оказывают эффекты по паракринному или аутокринному механизму через специфические рецепторы.

Главные биологические эффекты эйкозаноидов:

- участвуют в регуляции сокращений гладкой мускулатуры (разные типы эйкозаноидов вызывают вазоконстрикцию или вазодилатацию, бронхоконстрикцию или бронходилатацию);
- регулируют экскрецию воды и Na^+ почками и артериальное давление;
- участвуют в развитии воспаления;
- регулируют свертываемость крови (табл. 8.8).

Таблица 8.8. Биологическое действие основных типов эйкозаноидов

Эйкозаноид	Основное место синтеза	Основное биологическое действие
PGE_2	Большинство тканей, особенно почки	Расслабляет гладкую мускулатуру, расширяет сосуды, инициирует родовую активность
$PGF_{2\alpha}$	Большинство тканей	Сокращает гладкую мускулатуру, сужает сосуды, бронхи, стимулирует сокращения матки
PGI_2	Сердце, клетки эндотелия сосудов	Уменьшает агрегацию тромбоцитов, расширяет сосуды, в клетках-мишенях увеличивает образование цАМФ
TXA_2	Тромбоциты	Стимулирует агрегацию тромбоцитов, сужает сосуды и бронхи, в клетках уменьшает образование цАМФ
LTB_4	Клетки белой крови, клетки эпителия	Стимулирует хемотаксис и агрегацию лейкоцитов
LTC_4 -> LTD_4, -> LTE_4	Клетки белой крови, альвеолярные макрофаги	Стимулируют расширение сосудов, увеличивают их проницаемость, вызывают сокращение бронхов. Основные компоненты медленно реагирующей субстанции анафилаксии

Основные классы эйкозаноидов представлены:

- простагландинами PG (включая простациклины);
- тромбоксанами;
- лейкотриенами.

2. Исходными субстратами для синтеза эйкозаноидов являются полиеновые жирные кислоты с 20 атомами углерода («эйкоза» по-гречески — 20). Главный субстрат для синтеза эйкозаноидов у человека — арахидоновая кислота (20:4 ω-6), также используются 20:5 ω-3 и 20:3 ω-6 жирные кислоты.

Полиеновые кислоты с 20 атомами углерода поступают в организм человека с пищей или образуются по следующим схемам из незаменимых жирных кислот с 18 атомами углерода, также поступающих с пищей:

ω-6 кислоты: 18:2 (9, 12) ⟶ 20:3 (Δ 8,11, 14) ⟶ 20:4 (Δ5, 8, 11, 14) — арахидоновая кислота;

ω-3кислоты: 18:3(Δ9,12,15) ⟶ 20:5 (Δ 5, 8,11,14, 17) — эйкозапентаеновая кислота.

3. В разных тканях из арахидоновой кислоты под действием специфического для этой ткани набора ферментов образуются **различные эйкозаноиды**. Обычно в каждом типе клеток синтезируется преимущественно один тип эйкозаноидов.

Образовавшиеся в клетке эйкозаноиды выходят из нее и взаимодействуют с рецепторами на поверхности этой же клетки (аутокринный механизм) или с рецепторами на соседних клетках (паракринный механизм). Время полураспада простагландинов равно нескольким минутам, однако за это время они вызывают существенные изменения в метаболизме тех тканей, где они образовались. Для каждого эйкозаноида есть несколько типов рецепторов, которые располагаются в мембране клеток рядом с аденилатциклазой, некоторые из простагландинов взаимодействуют с G-белками аденилатциклазной системы. Такие простагландины, взаимодействуя со своими рецепторами, могут модулировать активность аденилатциклазы. Например, PGE_1 увеличивает количество цАМФ в некоторых клетках, а PGE_2 уменьшает. Ответ клетки на действие эйкозаноидов определяется типом ее рецепторов. Эйкозаноиды по сумме признаков определяют как гормоны местного действия, однако при некоторых патологических состояниях эйкозаноиды могут оказывать и системное действие, если их концентрация в крови увеличивается до соответствующего уровня, при котором они могут влиять на тонус гладкой мускулатуры в целом.

4. Номенклатура эйкозаноидов. Простагландины обозначаются символами, например PGA, где PG обозначает слово «простагландин», а буква, например, A — заместитель в 5-членном кольце в молекуле простагландина (рис. 8.24):

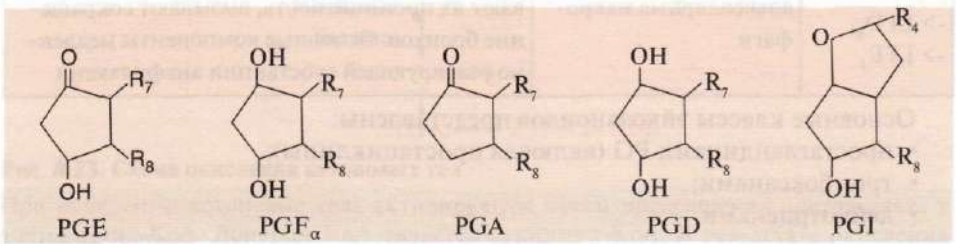
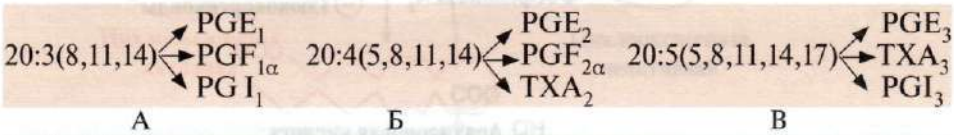


Рис. 8.24. Строение основных классов эйкозаноидов

R_7 — алифатический радикал из семи атомов углерода, который содержит двойную связь и карбоксильную группу на конце; R_8 — алифатический радикал, содержащий двойные связи и —OH группу в положении 15

Каждая из групп эйкозаноидов отличается, кроме того, по числу двойных связей в боковых цепях. Число двойных связей обозначается нижним цифровым индексом, например PGE_r.

Число двойных связей в боковых цепях зависит от предшественника — полиеновой кислоты, из которой образовались простагландины. Две двойные связи жирной кислоты – субстрата — используются при образовании кольца (рис. 8.25), а оставшиеся двойные связи находятся в радикалах, связанных с кольцом, и определяют серию простагландина: серия 1 — если одна двойная связь, серия 2 — если две двойные связи и т.д.



А. Эйкозатриеновая кислота в организме находится в незначительном количестве, поэтому эйкозаноидов серии 1 синтезируется мало.

Б. В обычном рационе в составе фосфолипидов в большом количестве содержится арахидоновая кислота (табл. 8.2), которая является основным предшественником в синтезе простагландинов, поэтому в организме человека преобладают эйкозаноиды серии 2.

В. Если человек потребляет с пищей рыбий жир, в котором имеется высокая концентрация 20:5 жирной кислоты, синтез эйкозаноидов серии 3 увеличивается.

5. Синтез эйкозаноидов начинается после отделения жирной кислоты от фосфолипидов мембран под действием фермента фосфолипазы A_2. Этот фермент активируется многими сигналами: гормонами, механическим раздражением, медиаторами. Арахидоновая (или другая полиеновая) кислота переходит в цитозоль клетки и становится доступной для синтеза эйкозаноидов. Синтез основной группы эйкозаноидов — простагландинов, простациклинов и тромбоксанов — начинается с действия на полиеновую кислоту бифункционального фермента — простагландинсинтазы. Первый активный центр этого фермента — циклооксигеназа; он формирует 5-членное кольцо и присоединяет две молекулы кислорода, образуя нестабильный пероксид — первичный простагландин PGG_2.

PGG_2 быстро восстанавливается до PGH_2 в положении 15 вторым активным центром — пероксидазой, использующей восстановленный глутатион как донор водорода. Последующие превращения PGH_2 зависят от типа тканей; например, тромбоксаны синтезируются в основном в тромбоцитах, простациклины — в клетках эндотелия сосудов, PGE_2, $PGF_{2\alpha}$ — во многих тканях.

Если арахидоновая кислота подвергается действию другого фермента — липоксигеназы, то образуются молекулы с тремя сопряженными двойными связями (отсюда название «лейкотриены»). Они имеют несколько вариантов структур и в основном участвуют в развитии аллергических реакций. Синтез большинства эйкозаноидов увеличивается при воспалительных процессах. Активность фосфолипазы A_2 при этих состояниях повышается и субстраты становятся доступными для синтеза эйкозаноидов.

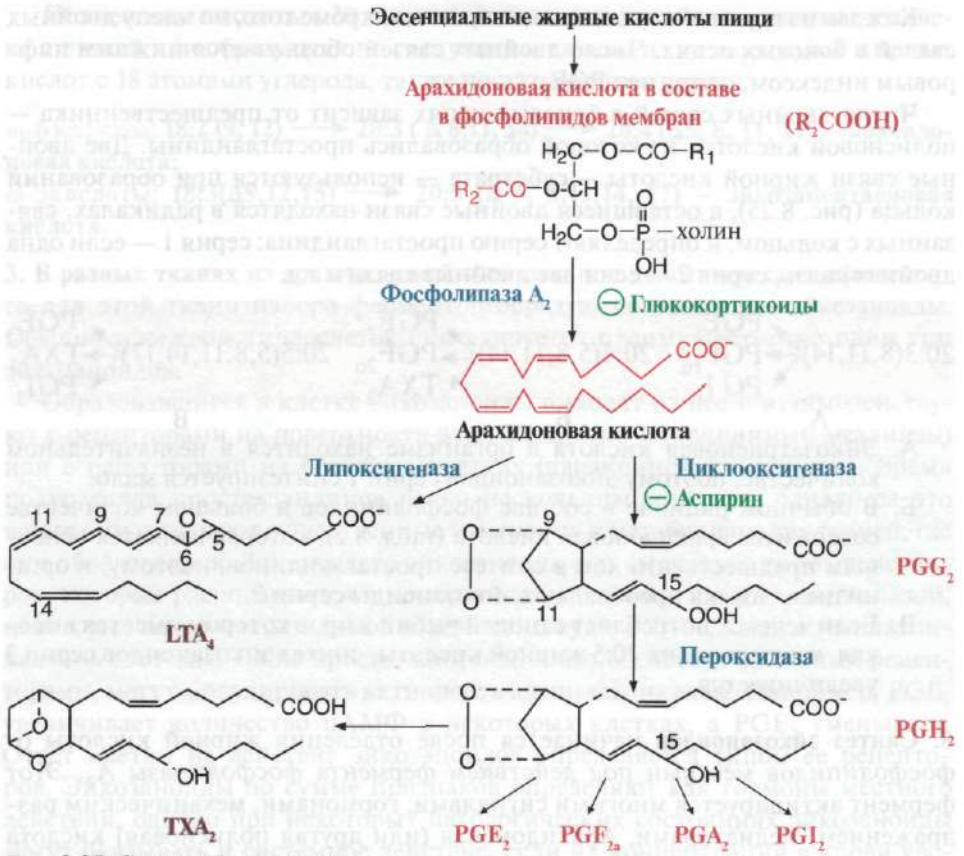


Рис. 8.25. Синтез эйкозаноидов

Полиеновые жирные кислоты, содержащие 20 углеродных атомов и от 3 до 5 двойных связей, обычно соединены со вторым атомом глицерола фосфолипидов мембран, отделяются под действием фосфолипазы A_2 и после этого становятся субстратами для синтеза разных типов эйкозаноидов. Главные пути синтеза эйкозаноидов — циклооксигеназный, приводящий к синтезу простагландинов и тромбоксанов, и липоксигеназный, приводящий к синтезу лейкотриенов

6. Ингибиторами синтеза эйкозаноидов являются:

— **глюкокортикоиды**, которые индуцируют синтез группы белков — **липокортинов**, ингибирующих активность фосфолипазы A_2, и таким образом подавляют синтез всех типов эйкозаноидов, участвующих в воспалении. Эти препараты обладают сильным противовоспалительным свойством, так как подавляют синтез всех эйкозаноидов.

— **аспирин и другие нестероидные противовоспалительные препараты** необратимо ингибируют циклооксигеназу (рис. 8.26).

7. Роль эйкозаноидов в регуляции свертывания крови. В норме свертывающая и противосвертывающая системы крови пребывают в состоянии равновесия, при котором кровь находится в жидком состоянии,

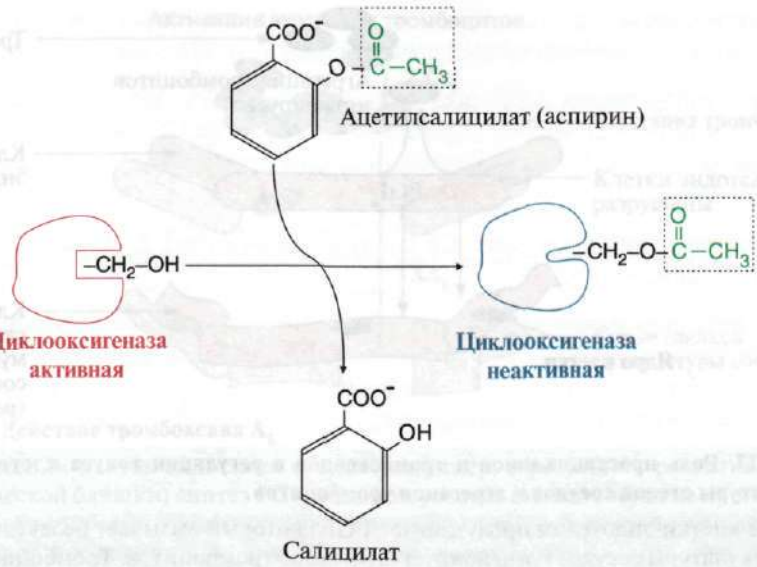


Рис. 8.26. Механизм инактивации циклооксигеназы аспирином

Ацетильный остаток переносится с молекулы аспирина на ОН-группу фермента и необратимо ингибирует его

*но способна быстро образовывать тромб при возникновении соответ*ствующих условий. При патологии или при действии фармакологических средств это равновесие может смещаться в любую сторону. В норме клетки эндотелия сосудов продуцируют простациклины PGI_2, PGE_2, PGD_2, которые препятствуют агрегации тромбоцитов и сужению сосуда (рис. 8.27); TXA_2, стимулирующий агрегацию тромбоцитов, в этих условиях не секретируется. TXA_2 секретируется тромбоцитами только в результате их активации — например, при контакте с поврежденной стенкой кровеносного сосуда (рис. 8.28). При разрушении клеток эндотелия (например, в результате образования атеросклеротической бляшки) синтез PGI, PGE, PGD снижается. Тромбоциты активируются в месте контакта с поврежденной стенкой сосуда и секретируют TXA_2, что стимулирует образование тромба в области повреждения эндотелия сосудов и развитие инфаркта.

При изучении факторов риска развития инфаркта миокарда было замечено, что люди, потребляющие большое количество рыбьего жира, значительно реже болеют инфарктом миокарда, так как у них медленнее образуются тромбы в сосудах сердца. Оказалось, что структура эйкозаноидов, синтезируемых в организме, зависит от состава жирных кислот пищи (табл. 8.2). Если с пищей поступает больше жирных кислот ω-3, которые в большом количестве содержатся в рыбьем жире, то эти кислоты включаются преимущественно в фосфолипиды мембран (вместо арахидоновой) и после действия фосфолипазы A_2 являются основными субстратами для синтеза

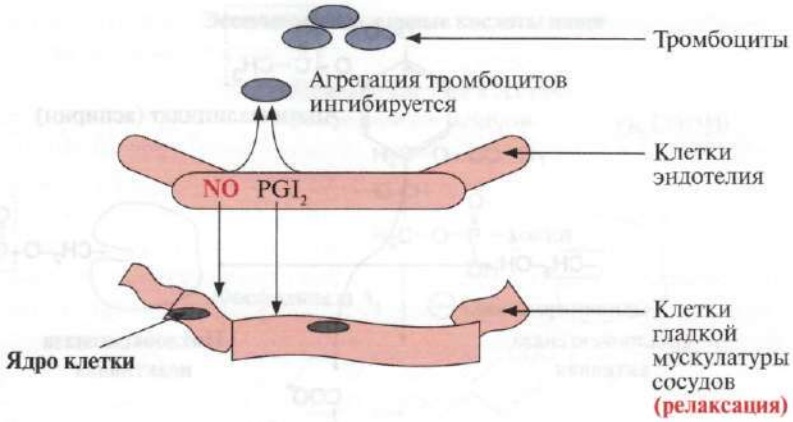


Рис. 8.27. Роль простациклинов и тромбоксанов в регуляции тонуса клеток гладкой мускулатуры стенок сосудов и агрегации тромбоцитов

В норме клетки эндотелия продуцируют PGI_2, который вызывает релаксацию гладкой мускулатуры сосудов и ингибирует агрегацию тромбоцитов. Тромбоциты в неактивном состоянии не продуцируют тромбоксаны, кровь находится в жидком состоянии. NO — оксид азота, продуцируемый ферментом NO-синтазой, также обладает вазодилятаторным эффектом

эйкозаноидов. Это оказывает существенное влияние на свертывание крови, что представлено на следующей схеме:

20:4 ω-6		20:5 ω-3	
TXA_2 образуется в тромбоцитах, стимулирует агрегацию тромбоцитов	PGI_2 PGE, PGD_2 образуются в эндотелии, ингибируют агрегацию тромбоцитов	TXA_3 слабо стимулирует агрегацию тромбоцитов	PGI_3 PGE_3 PGD_3 сильно ингибируют агрегацию тромбоцитов

Следовательно, при преобладании в рационе кислоты 20:4 ω-6 образуются TXA_2, действие которых уравновешено PGI_2 и другими PG. Если в рационе преобладают ω-3-кислоты, то в клетках эндотелия образуются более сильные ингибиторы тромбообразования (PGI_3, PGE_3, PGD_3), что снижает риск образования тромба и развития инфаркта миокарда.

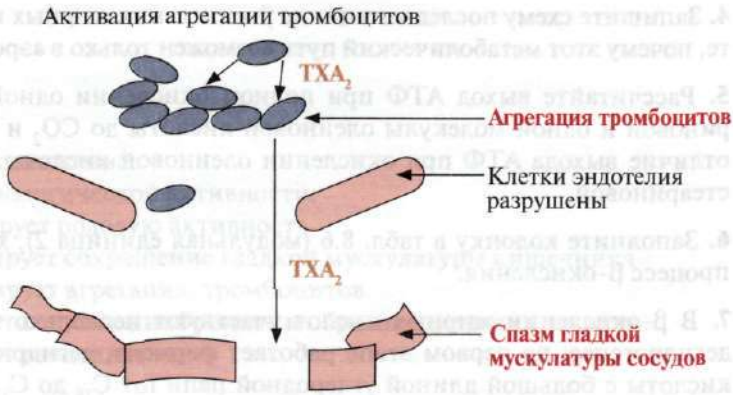


Рис. 8.28. Действие тромбоксана A_2

При поражении клеток эндотелия сосуда (например, в результате развития атеросклеротической бляшки) синтез PGI_2 в данном участке стенки сосуда не происходит. В это время тромбоциты контактируют с поврежденной сосудистой стенкой, в них активируется фосфолипаза A_2, освобождается арахидоновая кислота и из нее синтезируется TXA_2. TXA_2 стимулирует агрегацию тромбоцитов и сокращение стенок сосуда, в результате чего на поврежденном участке сосуда образуется тромб, происходит резкое сужение просвета сосуда, нарушается кровоснабжение ткани и может развиться инфаркт

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Объясните изменения в метаболизме жировой ткани, если после последнего приема пищи прошло 14 часов. При ответе:

а) укажите гормон, действие которого на жировую ткань преобладает в этих условиях;

б) изобразите схему действия этого гормона на жировую клетку.

2. Выберите правильные ответы.

В условиях, когда происходит мобилизация жира:

А. ТАГ-липаза находится в дефосфорилированном состоянии
Б. Концентрация глюкозы в крови составляет 60 мг/дл
В. Все жирные кислоты в печени перерабатываются в кетоновые тела
Г. Мозг использует жирные кислоты как источник энергии
Д. Протеинкиназа в адипоцитах находится в активной форме

3. Установите порядок событий.

При физической работе происходит:

А. Увеличение секреции адреналина
Б. Диссоциация субъединиц протеинкиназы А
В. Увеличение количества цАМФ в адипоцитах
Г. Фосфорилирование гормончувствительной липазы
Д. Гидролиз ТАГ в адипоцитах
Е. β-Окисление жирных кислот в мышцах

4. Запишите схему последнего цикла β-окисления жирных кислот и объясните, почему этот метаболический путь возможен только в аэробных условиях.

5. Рассчитайте выход АТФ при полном окислении одной молекулы стеариновой и одной молекулы олеиновой кислоты до CO_2 и H_2O и объясните отличие выхода АТФ при окислении олеиновой кислоты по сравнению со стеариновой.

6. Заполните колонку в табл. 8.6 (модульная единица 2), характеризующую процесс β-окисления.

7. В β-окислении жирных кислот участвуют несколько типов ацил-КоА-дегидрогеназ: на первом этапе работает фермент, дегидрирующий жирные кислоты с большой длиной углеродной цепи (от C_{18} до C_{12}); после того как жирные кислоты укорачиваются до C_{12}, начинает работать другая дегидрогеназа, которая дегидрирует жирные кислоты со средней длиной цепи (от C_{12} до C_6). Это необходимо знать, так как одно из наиболее распространенных генетических заболеваний — дефект дегидрогеназы жирных кислот со средней длиной цепи. Частота таких заболеваний составляет 1:15 000 человек. При дефекте этого фермента накапливаются жирные кислоты с короткой алифатической цепью, например C_6. Затем они подвергаются ω-окислению и выделяются в виде дикарбоновых кислот с мочой [$HOOC—(CH_2)_4—COOH$]. Объясните, почему у таких больных в период между приемами пищи развивается гипогликемия и не увеличивается синтез кетоновых тел. Для этого:

а) напишите реакцию, катализируемую ацил-КоА-дегидрогеназой;

б) укажите, как изменится использование жирных кислот и глюкозы в качестве источников энергии в этих условиях;

в) назовите причину приступов гипогликемии через 5—6 часов после приема пищи у таких больных;

г) объясните, почему, несмотря на состояние гипогликемии (ситуация, когда синтез кетоновых тел должен увеличиваться), у этих больных кетоновые тела не синтезируются.

8. Объясните, почему мозг может использовать кетоновые тела как источник энергии, а эритроциты и печень — нет. При ответе напишите схему окисления кетоновых тел и рассчитайте выход АТФ.

9. Используя номенклатуру и схему синтеза эйкозаноидов, изобразите строение PGE_2. Укажите исходный субстрат его синтеза и биологические эффекты PGE_2.

10. Установите соответствие:

Жирные кислоты-предшественники

А. $C_{20:4}$ (Δ5,8,11,14)

Б. $C_{20:0}$

В. $C_{18:1}$

Г. $C_{20:3}$ (Δ8,11,14)

Д. $C_{20:5}$ (Δ 5,8,11,14,17)

Эйкозаноиды:

1. PGE_1
2. $PGF_{2\alpha}$
3. TXA_3

11. Установите соответствие.

Проявление биологической активности:

А. Инициирует родовую активность
Б. Стимулирует сокращение гладкой мускулатуры кишечника
В. Стимулирует агрегацию тромбоцитов
Г. Вызывает сокращение бронхов и образование в них секрета
Д. Вызывает вазодилятацию

Эйкозаноид:

1. TXA_2
2. LTA_4
3. PGI_2

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

Опухоль надпочечников — феохромоцитома продуцирует повышенное количество адреналина. У больных с феохромоцитомой:

А. Увеличена концентрация цАМФ в жировой ткани
Б. Снижена активность гормончувствительной липазы
В. Увеличена концентрация жирных кислот в крови
Г. Повышена концентрация ТАГ в крови
Д. Протеинкиназа А активирована в адипоцитах

2. Выберите правильный ответ.

Один цикл β-окисления включает четыре последовательные реакции:

А. Окисление, дегидратация, окисление, расщепление
Б. Восстановление, дегидрирование, восстановление, расщепление
В. Дегидрирование, гидратация, дегидрирование, расщепление
Г. Гидрирование, дегидратация, гидрирование, расщепление
Д. Восстановление, гидратация, дегидрирование, расщепление

3. Выберите правильные ответы.

В работающих скелетных мышцах скорость β-окисления возрастает при:

А. Повышении концентрации NAD^+ в митохондриях
Б. Увеличении концентрации NADH в митохондриях
В. Активации синтеза малонил-КоА в цитозоле
Г. Гипоксии
Д. Уменьшении соотношения АТФ—АДФ в клетке

4. Выберите правильные ответы.

Синтез кетоновых тел активируется, когда:

А. Концентрация инсулина в крови повышена
Б. Концентрация жирных кислот в крови повышена
В. Скорость реакции ЦТК в печени увеличена
Г. Синтез ГМГ-КоА в митохондриях увеличен
Д. Скорость β-окисления в митохондриях печени выше нормы

5. Установите соответствие.

Характеристики кетоновых тел:

А. Окисляется, превращаясь в другое кетоновое тело
Б. Образуется из продуктов катаболизма глюкозы
В. Накопление в крови вызывает алкалоз
Г. Не является источником энергии
Д. Активируется с участием сукцинил~КоА

Кетоновые тела:

1. Ацетоацетат
2. Ацетон
3. β-Гидроксибутират

6. Выберите правильные ответы.

При длительном голодании используют кетоновые тела в качестве источника энергии:

А. Мозг
Б. Скелетные мышцы
В. Сердце
Г. Печень
Д. Эритроциты

7. Выберите правильный ответ.

При длительном голодании наибольший вклад в развитие ацидоза вносит:

А. Пальмитат
Б. β-Гидроксибутират
В. Ацетат
Г. Ацетон
Д. Ацетоацетат

8. Установите порядок событий.

При синтезе простагландинов:

А. Освобождается арахидоновая кислота из фосфолипидов мембран
Б. Синтезируется PGE_2
В. Под действием циклооксигеназы образуется PGG_2
Г. Под действием пероксидазы образуется PGH_2
Д. Активируется фосфолипаза A_2

9. Выберите правильный ответ.

Нестероидные противовоспалительные препараты ингибируют:

А. Тромбоксансинтазу
Б. Циклооксигеназу
В. Липоксигеназу
Г. Пероксидазу
Д. Фосфолипазу A_2

10. Выберите правильные ответы.

Лейкотриены:

А. Синтезируются из арахидоновой кислоты под действием циклооксигеназы
Б. Содержат четыре двойные связи
В. Синтезируются клетками белой крови
Г. При избыточной секреции могут вызывать приступ бронхиальной астмы
Д. Ингибируются аспирином

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. А, В, Д
2. В
3. А, Д
4. Б, Г, Д
5. 1—Д; 2—Г; 3—А
6. А, Б, В
7. Б
8. Б→А→В→Г→Д
9. Б
10. Б, В, Г

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Мобилизация жиров (липолиз)
2. Гормончувствительная липаза (ТАГ-липаза)
3. Гормоны, стимулирующие липолиз
4. β-Окисление жирных кислот, биологические функции
5. Генетические дефекты ацил-КоА-дегидрогеназы
6. Кетоновые тела, биологическая функция
7. Кетонемия, кетонурия, кетоацидоз
8. Эйкозаноиды: простагландины, тромбоксаны, лейкотриены, биологические функции

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Жиры являются наиболее энергоемкими молекулами. Объясните это, исходя из структуры жиров, и рассчитайте количество молекул АТФ, образующихся при окислении одной молекулы трипальмитоилглицерола. Для этого:

а) напишите реакцию гидролиза этого соединения;
б) рассчитайте число молекул АТФ, образующихся при окислении одной молекулы пальмитата до CO_2 и H_2O;
в) напишите реакции катаболизма глицерола (Глицерол → Глицерол-3-фосфат → Диоксиацетонфосфат → Глицеральдегидфосфат) и схему пути дальнейшего окисления глицеральдегидфосфата до CO_2 и H_2O;
г) рассчитайте число молекул АТФ, синтезируемых при окислении одной молекулы глицерола до CO_2 и H_2O;
д) рассчитайте суммарный выход АТФ при окислении одной молекулы трипальмитоилглицерола.

2. У пациента измерили концентрацию жирных кислот в артериальной крови, поступающей в миокард (0,8 ммоль/л), и венозной, вытекающей из миокарда (0,4 ммоль/л). Общее количество липидов в миокарде не изменилось. Объясните разницу в концентрации жирных кислот. Для этого ответьте на вопросы:

а) как жирные кислоты транспортируются по крови?
б) какой специфический метаболический путь жирных кислот в миокарде определяет эту разницу? Изобразите схему этого пути;
в) какую функцию выполняет этот метаболический путь в миокарде?
г) как изменится скорость этого пути при уменьшении концентрации кислорода в крови, питающей миокард?
д) укажите коферменты, обеспечивающие связь этого метаболического пути с ЦПЭ.

3. При анализе крови у здорового человека концентрация глюкозы в крови после еды составляет ≈8 ммоль/л. Как изменится активность регуляторного фермент β-окисления жирных кислот в этих в условиях?

При ответе:

а) объясните, как называется такое состояние у здорового человека;
б) укажите, концентрация какого гормона увеличена в крови;
в) напишите реакцию, катализируемую регуляторным ферментом β-окисления, и укажите его ингибитор;
г) напишите реакцию образования этого ингибитора;
д) оцените, как изменится скорость β-окисления в этих условиях.

4. При одном из наследственных заболеваний в скелетных мышцах больных снижена концентрация карнитина в результате дефекта ферментов,

участвующих в его синтезе. Почему у таких пациентов снижена способность выполнять физическую работу?

При ответе:

а) напишите схему, показывающую роль карнитина в метаболизме жирных кислот;

б) укажите, скорость какого метаболического пути снижена у таких больных;

в) объясните, почему в биоптате мышц больных содержатся большие вакуоли жира, видимые под микроскопом.

5. Экспериментальные животные в течение 1 недели получали с пищей избыток глюкозы, содержащий радиоактивный углерод. Затем животные голодали в течение двух дней. В крови обнаружены кетоновые тела, содержащие радиоактивный углерод. Объясните результаты эксперимента, напишите краткие схемы метаболических путей, через которые проходит радиоактивный углерод, поступивший в организм в составе глюкозы.

6. У пациента обнаружена повышенная свертываемость крови. Для уменьшения риска образования тромбов и развития инфаркта миокарда кардиолог назначил ежедневный прием кардиоаспирина в дозе 0,1 г. Какие молекулярные механизмы лежат в основе снижения скорости тромбообразования под действием этого препарата? Для ответа:

а) напишите схему реакции, на которую влияет аспирин;

б) укажите фермент, на который действует аспирин, и укажите механизм его действия;

в) объясните механизм влияния аспирина на свертываемость крови;

г) сравните действие аспирина на тромбоциты и клетки эндотелия;

д) объясните, почему действие аспирина прекращается через несколько часов.

7. Безуглеводная диета доктора Аткинса и ее разновидность — «кремлевская» — одни из самых популярных в наши дни. Суть их в том, что необходимо резко ограничить поступление углеводов с пищей (не более 15 г в день), а жиров и белков можно есть даже больше, чем при нормальном питании. Объясните, почему, несмотря на потребление жиров, человек «сбрасывает вес». Какие негативные последствия возможны при данной диете?

Для ответа:

а) объясните, как повлияет диета на синтез инсулина и почему;

б) изобразите схему синтеза и гидролиза ТАГ в жировой ткани. Покажите на схемах, какие процессы усиливаются и какие подавляются у человека, соблюдающего такую диету (обозначьте процессы, скорость которых увеличивается, красной линией, скорость которых уменьшается — синей);

в) укажите, концентрация каких ЛП повысится в крови, и объясните, почему у людей, длительное время придерживающихся данной диеты, возрастает риск развития атеросклероза?

г) напишите реакции синтеза кетоновых тел в печени и объясните, как изменится скорость этих реакций у человека, соблюдающего данную диету? К каким негативным последствиям это может привести?

8. Рассчитайте выход АТФ при окислении 1 моль β-гидроксибутирата и объясните, почему это кетоновое тело преобладает в крови при длительном голодании.

Модульная единица 4
ОБМЕН ХОЛЕСТЕРОЛА, ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ И ТРАНСПОРТ КРОВЬЮ. ДИСЛИПОПРОТЕИНЕМИИ. БИОСИНТЕЗ И ФУНКЦИИ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ. ЖЕЛЧНОКАМЕННАЯ БОЛЕЗНЬ

Цели изучения

Уметь:

1. Применять знания об обмене холестерола для понимания основ рационального питания, профилактики атеросклероза и его последствий.
2. Использовать знания об обмене холестерола и желчных кислот для понимания молекулярных механизмов развития атеросклероза, желчнокаменной болезни и принципов их лечения.
3. Интерпретировать результаты биохимических анализов содержания холестерола и липопротеинов крови.

Знать:

1. Функции холестерола в организме.
2. Этапы биосинтеза холестерола и молекулярные механизмы его регуляции.
3. Роль липопротеинов в транспорте экзогенного и эндогенного холестерола.
4. Этапы синтеза и конъюгации желчных кислот, их роль в переваривании липидов и обмене холестерола.
5. Причины, вызывающие нарушение обмена холестерола, и их последствия; гиперхолестеролемия, дислипопротеинемии, атеросклероз, желчнокаменная болезнь.

ТЕМА 8.11. ХОЛЕСТЕРОЛ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ. ПОСТУПЛЕНИЕ С ПИЩЕЙ И ТРАНСПОРТ КРОВЬЮ ЭКЗОГЕННОГО ХОЛЕСТЕРОЛА

1. Холестерол — основной стероид организма человека — имеет сложную циклическую структуру, содержащую боковую цепь в положении 17 (рис. 8.29) и гидроксильную группу в положении 3, что позволяет ему образовывать эфиры с жирными кислотами.

Основные функции холестерола в организме (рис. 8.31):

- компонент мембран, влияющий на вязкость гидрофобного слоя;
- компонент монослоя липидов на поверхности липопротеинов (вместе с фосфолипидами);
- предшественник желчных кислот, стероидных гормонов, витамина D_3.

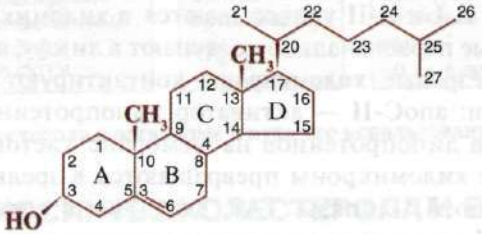


Рис. 8.29. Строение холестерола

В организме человека содержится около 140 г холестерола, в основном в клетках нервной, мышечной тканей и печени. В клетках холестерол находится преимущественно в наружном слое плазматических мембран, где соотношение фосфолипидов и холестерола ~1:1. В мембранах клеток и на поверхности липопротеинов содержится свободный неэтерифицированный холестерол, а эфиры холестерола либо представляют собой форму депонирования в клетках, где происходит синтез стероидных гормонов, либо присутствуют во внутреннем гидрофобном ядре липопротеинов.

Холестерол, несмотря на наличие гидроксильной группы, очень плохо растворим в воде — 0,2 мг в 100 мл, однако в крови его концентрация в 300 раз больше, так как он находится в гидрофобном ядре липопротеинов.

Концентрация холестерола в крови у взрослых здоровых людей не должна превышать 200 мг/дл, или 5,2 ммоль/л, у детей первого года жизни ~50±10 мг/дл.

2. В суточном количестве пищи современного человека содержится около *1 г холестерола, однако всасывается в составе смешанных мицелл приблизительно* 0,5 г. Холестерол — это стероид животного происхождения, поэтому он поступает с животной пищей, особенно много его в мясе, печени, мозге, яичных желтках, сыре. Стероиды растительного происхождения в кишечнике практически не всасываются и удаляются с калом. Количество синтезированного в организме холестерола колеблется от 0,5 до 1,0 г и зависит от его содержания в пище.

Эфиры холестерола, поступающие в организм с пищей, гидролизуются холестеролэстеразой панкреатического сока.

$$\text{Ацилхолестерол} + H_2O \xrightarrow{\text{Холестеролэстераза}} RCOOH + \text{Холестерол}$$

Продукты гидролиза всасываются эпителием кишечника в составе смешанных мицелл. Экзогенный или синтезированный клетками кишечника холестерол частично превращается в эфиры. Этот процесс включает две стадии:

- активацию жирной кислоты под действием **ацил-КоА-синтетазы**;
- перенос ацильного остатка ацил-КоА на ОН-группу холестерола, который катализирует **ацилхолестеролацилтрансфераза** (АХАТ).

В клетках слизистой кишечника эфиры холестерола, свободный холестерол, ресинтезированные ТАГ и синтезированные энтероцитами аполипопротеины В-48, А-I и А-II упаковываются в хиломикроны, называемые незрелыми, которые первоначально поступают в лимфу, а затем — в кровь.

В кровотоке незрелые **хиломикроны** контактируют с ЛПВП и получают от них белки: апоС-II — активатор липопротеинлипазы и апоЕ — лиганд рецепторов липопротеинов на мембране клеток печени (рис. 8.1, 8.30). В результате хиломикроны превращаются в зрелые частицы и подвергаются действию ЛП-липазы. ТАГ, входящие в состав хиломикронов, гидролизуются ЛП-липазой до глицерола и жирных кислот, которые покидают хиломикроны и поступают в ткани. Хиломикроны уменьшаются в размере и превращаются в остаточные (ХМ ост. или ремнантные частицы), в которых находится холестерол, поступивший из кишечника.

Рис. 8.30. Транспорт экзогенного холестерола

Х, ЭХ — холестерол и его эфиры; ХМ — хиломикроны; ЛПЛ — липопротеинлипаза; ХМ ост. — хиломикроны остаточные; ХМ незр. — ХМ незрелые, ХМ зр. — ХМ зрелые

Остаточные хиломикроны удаляются из кровеносного русла печенью по механизму эндоцитоза с помощью ЛПНП-рецепторов, лигандами которых служат апоВ и апоЕ. Затем компоненты остаточных хиломикронов расщепляются лизосомальными ферментами. Холестерол, освобождающийся из остаточных хиломикронов и других липопротеинов, включается в общий фонд этого стероида в организме.

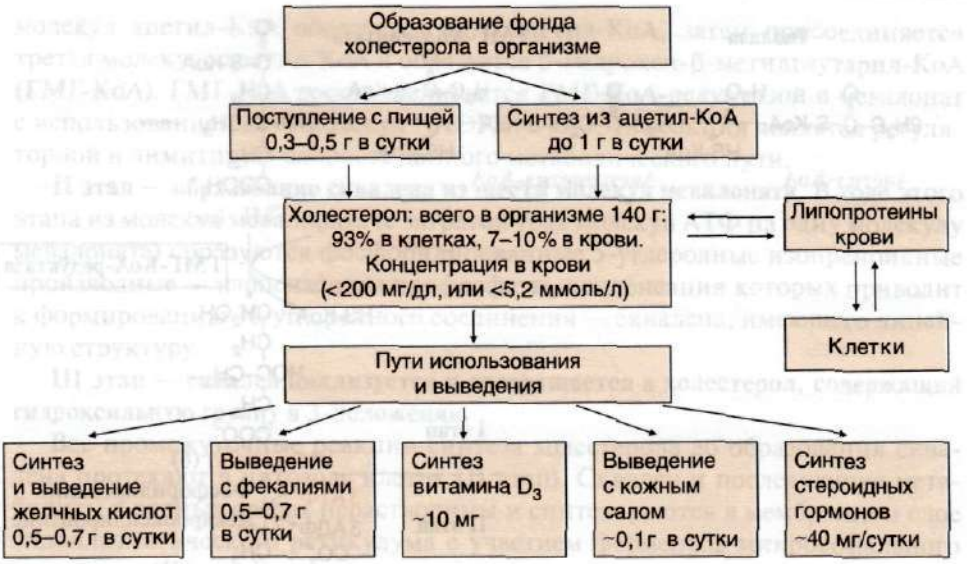


Рис. 8.31. Фонд холестерола в организме и пути его использования и выведения

ТЕМА 8.12. БИОСИНТЕЗ ХОЛЕСТЕРОЛА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

1. Синтез холестерола может происходить в большинстве типов клеток, однако основное его количество синтезируется в печени (~ 75—80%), тонкой кишке (~15%), коже и железах, продуцирующих стероидные гормоны — коре надпочечников и половых железах. Печень является главным органом, поставляющим холестерол в другие ткани.

Исходным субстратом для синтеза холестерола является ацетил-КоА. Синтез холестерола происходит в абсорбтивный период, когда в печени активируется гликолиз, который является главным источником ацетил-КоА для синтеза холестерола. В синтезе холестерола из ацетил-КоА участвует около 30 ферментов, и этот метаболический путь является одним из самых длинных в организме. Реакции синтеза холестерола происходят в цитозоле и эндоплазматическом ретикулуме. Для синтеза необходим ацетил-КоА и NADPH, образующийся в основном в реакциях пентозофосфатного пути катаболизма глюкозы. Все 27 атомов углерода холестерола (рис. 8.29) происходят из ацетил-КоА.

2. Процесс синтеза холестерола условно разделяют на три этапа. I этап — реакции от ацетил-КоА до мевалоновой кислоты (рис. 8.32).

Так как ацетил-КоА образуется в митохондриях, а синтез холестерола происходит в цитоплазме клеток, то (как и при синтезе жирных кислот) ацетил-КоА доставляется в цитоплазму в составе цитрата. Первые реакции процесса сходны с реакциями синтеза кетоновых тел, которые, в отличие от синтеза холестерола, протекают в митохондриях. В результате конденсации двух

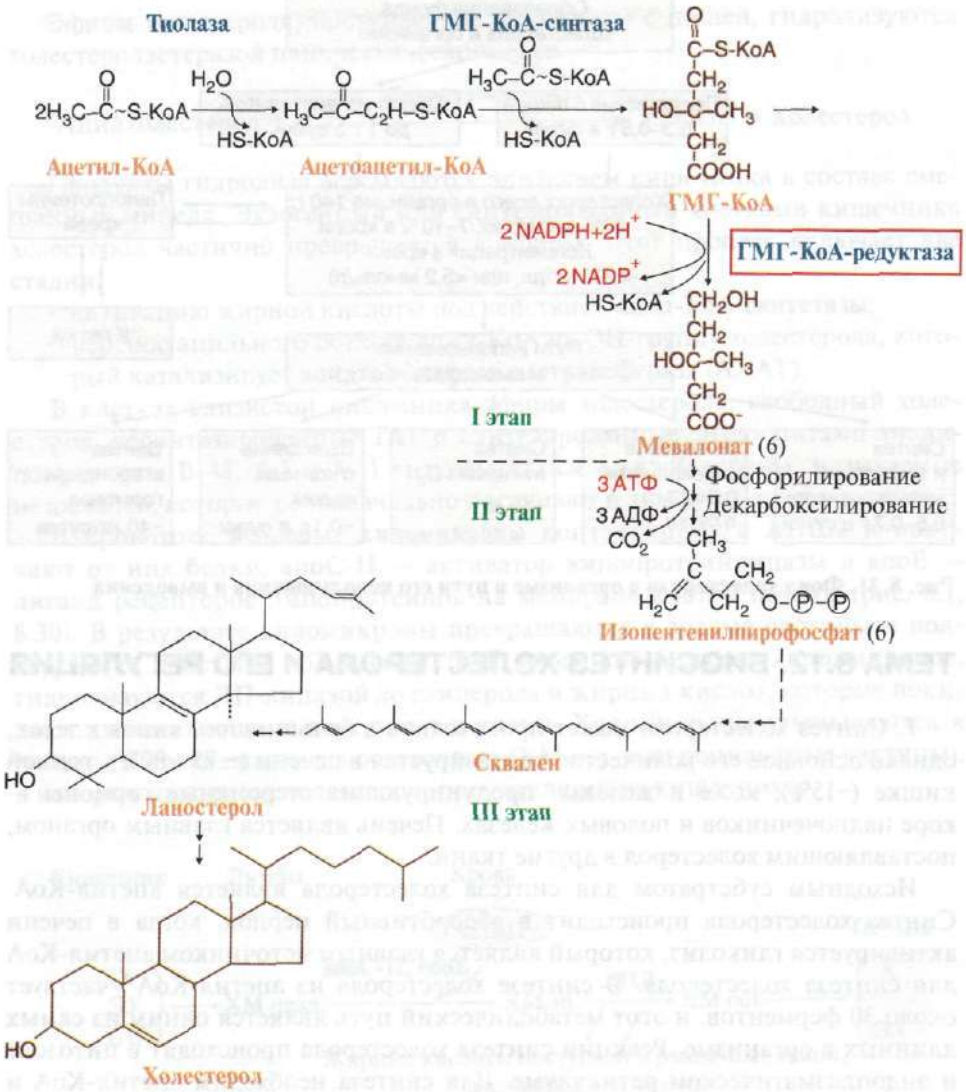


Рис. 8.32. Схема синтеза холестерола

I этап — реакции от ацетил-КоА до мевалоновой кислоты — включает регуляторную реакцию синтеза холестерола, катализируемую ГМГ-КоА редуктазой.

II этап — образование сквалена из шести молекул мевалоната. В ходе этого этапа из молекул мевалоната образуются изопреноидные производные — изопентенилпирофосфаты, конденсация которых приводит к формированию 30-углеродного соединения — сквалена, имеющего линейную структуру.

III этап — сквален превращается в холестерол. Сквален циклизуется с образованием полициклического ядра ланостерола, модификация которого сопровождается потерей трех углеродных атомов и ведет к образованию холестерола

молекул ацетил-КоА образуется ацетоацетил-КоА, затем присоединяется третья молекула ацетил-КоА и образуется β-гидрокси-β-метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА). ГМГ-КоА восстанавливается ГМГ-КоА-редуктазой в мевалонат с использованием двух молекул NADPH + H^+. Эта реакция является регуляторной и лимитирует скорость данного метаболического пути.

II этап — образование сквалена из шести молекул мевалоната. В ходе этого этапа из молекул мевалоната (с затратой трех молекул АТФ на одну молекулу мевалоната) образуются фосфорилированные 5-углеродные изопреноидные производные — изопентенилпирофосфаты, конденсация которых приводит к формированию 30-углеродного соединения — сквалена, имеющего линейную структуру.

III этап — сквален циклизуется и превращается в холестерол, содержащий гидроксильную группу в 3-положении.

Все промежуточные реакции синтеза холестерола до образования сквалена протекают в цитозоле клеток (II этап). Сквален и последующие метаболиты в водных средах нерастворимы и синтезируются в мембранном слое эндоплазматического ретикулума с участием ферментов микросомального окисления (III этап).

3. Регуляторной реакцией синтеза холестерола является превращение ГМГ-КоА в мевалонат. Эту реакцию катализирует **ГМГ-КоА-редуктаза**, активность которой может варьировать в широких пределах (рис. 8.33). Она регулируется многими механизмами:

- **изменением количества фермента**, которое контролируется на уровне экспрессии гена ГМГ-КоА-редуктазы (транскрипционный контроль). Холестерол, некоторые его оксипроизводные (25-оксихолестерол, 24,25-эпоксихолестерол), кортикостероиды, желчные кислоты являются низкомолекулярными корепрессорами транскрипции гена ГМГ-КоА-редуктазы. В промоторной части гена обнаружены участки, к которым присоединяются белки, связанные с холестеролом или его оксипроизводными и блокирующие синтез фермента. Индукторами синтеза ГМГ-КоА-редуктазы являются эстрогены. В течение дня активность ГМГ-КоА-редуктазы и скорость синтеза холестерола варьируют.
- количество ГМГ-КоА редуктазы регулируется и **путем ее протеолиза**, активируемого избытком холестерола и его производных (рис. 8.33).
- по механизму **фосфорилирования-дефосфорилирования** (рис. 8.33). В абсорбтивый период в гепатоцитах под действием гормона **инсулина** ГМГ-КоА-редуктаза переходит в активное дефосфорилированное состояние и синтез холестерола активируется. При голодании и в постабсорбтивном периоде **глюкагон** вызывает фосфорилирование этого фермента, переводит его в неактивное состояние и синтез холестерола замедляется;
- высокими концентрациями АМФ, так как в условиях недостатка АТФ, увеличивается количество АМФ, который активирует АМФ-зависимую проинкиназу, что в конечном итоге приводит к фосфорилированию и инактивации ГМГ-КоА-редуктазы.

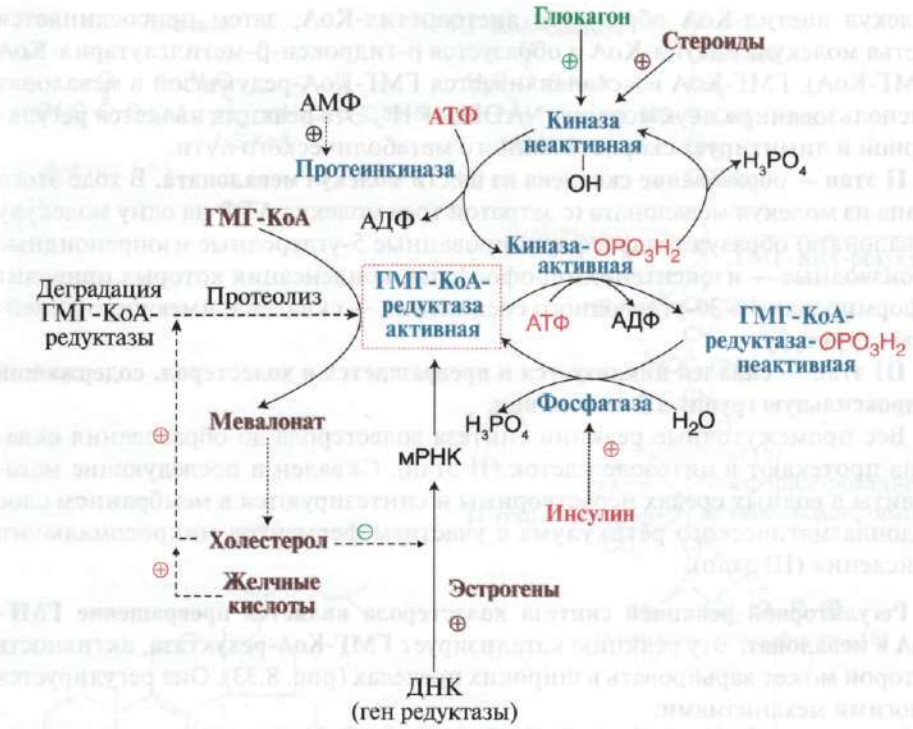


Рис. 8.33. Регуляция активности ГМГ-КоА-редуктазы в печени.

- Регуляторный фермент синтеза холестерола ГМГ-КоА-редуктаза активируется в печени в абсорбтивный период под действием инсулина и при условии высоких концентраций АТФ. В это период он находится в дефосфорилированном состоянии и синтез холестерола происходит.
- Поступление избытка холестерола с пищей, высокое содержание желчных кислот уменьшают синтез холестерола, так как активируют протеолиз ГМГ-КоА редуктазы, кроме того, избыток стероидов увеличивает синтез киназы, которая фосфорилирует и ингибирует ГМГ-КоА-редуктазу.
- При голодании гормон глюкагон стимулирует инактивацию ГМГ-КоА-редуктазы путем ее фосфорилирования и синтез холестерола тормозится.

4. Большая часть молекул холестерола, синтезированных в печени (эндогенного холестерола), превращается в эфиры, которые упаковываются в ЛПОНП незрелые, и в таком виде секретируются в кровь.

ТЕМА 8.13. БИОСИНТЕЗ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ И ИХ РОЛЬ В ПОДДЕРЖАНИИ ГОМЕОСТАЗА ХОЛЕСТЕРОЛА В ОРГАНИЗМЕ. БИОХИМИЯ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ

1. В печени 300—500 мг холестерола ежесуточно окисляется в желчные кислоты. Желчные кислоты выполняют следующие функции:

- участвуют в переваривании и всасывании липидов;
- являются конечными продуктами катаболизма холестерола, в виде которых он экскретируется с калом из организма;
- являются компонентами желчи, удерживающими холестерол в растворенном состоянии.

2. Синтез желчных кислот происходит в мембранах эндоплазматического ретикулума гепатоцитов под действием гидроксилаз (цитохромов, в состав которых входит цитохром P_{450}), катализирующих включение гидроксильных групп в положение 7α, 12α (рис. 8.34), с последующим укорочением бокового радикала в положении 17, с окислением его до карбоксильной группы, откуда и происходит название — **желчные кислоты**.

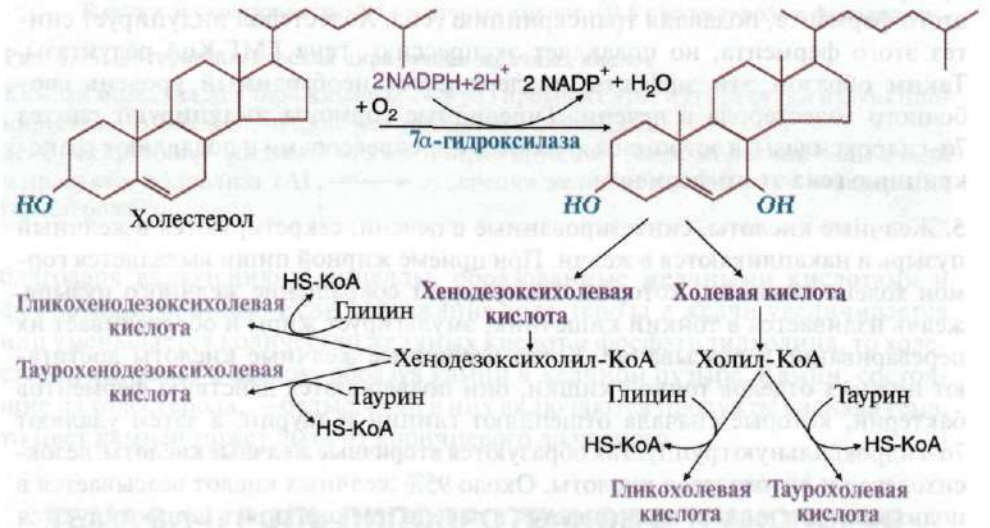
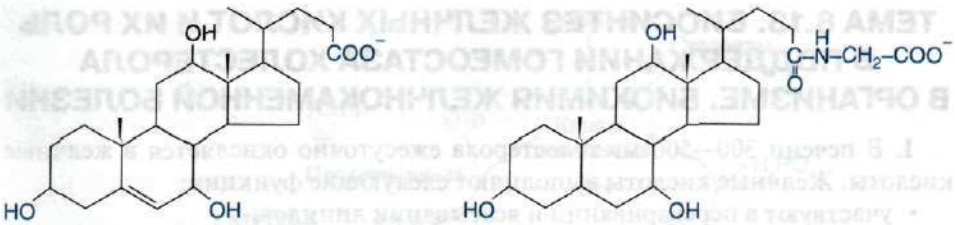


Рис. 8.34. Синтез и конъюгация желчных кислот

Регуляторный фермент синтеза желчных кислот 7α-гидроксилаза; его ингибитором являются желчные кислоты. Первичные желчные кислоты — холевая и хенодезоксихолевая — подвергаются реакции конъюгации — связыванию с глицином и таурином, в результате чего увеличиваются их эмульгирующие свойства

3. Образующиеся в печени **холевая** и **хенодезоксихолевая кислоты** называются **первичными желчными кислотами**. Они этерифицируются глицином (рис. 8.35) или таурином, давая парные (или конъюгированные) желчные кислоты, и в такой форме секретируются в желчь. В процесс конъюгации желчные кислоты вступают в активной форме в виде производных



Холевая кислота **Гликохолевая кислота**

Рис. 8.35. Структура желчных кислот

HS-KoA-(холил-KoA). Конъюгация желчных кислот делает их более амфифильными и таким образом увеличивает детергентные свойства. Отношение глициновых конъюгатов к тауриновым приблизительно 3:1.

4. Синтез желчных кислот регулируется ферментом 7α-гидроксилазой. Этому ферменту для протекания реакции требуется кислород и NADPH. Конечный продукт метаболического пути — желчные кислоты уменьшают синтез этого фермента, подавляя транскрипцию гена. Холестерол индуцирует синтез этого фермента, но подавляет экспрессию гена ГМГ-KoA-редуктазы. Таким образом эти эффекты поддерживают необходимый уровень свободного холестерола в печени. Тиреоидные гормоны индуцируют синтез 7α-гидроксилазы, а эстрогены являются корепрессорами и подавляют транскрипцию гена этого фермента.

5. Желчные кислоты, синтезированные в печени, секретируются в желчный пузырь и накапливаются в желчи. При приеме жирной пищи выделяется гормон холецистокинин, который стимулирует сокращение желчного пузыря, желчь изливается в тонкий кишечник, эмульгирует жиры и обеспечивает их переваривание и всасывание. Когда первичные желчные кислоты достигают нижних отделов тонкой кишки, они подвергаются действию ферментов бактерий, которые сначала отщепляют глицин и таурин, а затем удаляют 7α-гидроксильную группу. Так образуются **вторичные желчные кислоты**: дезоксихолевая и литохолевая кислоты. Около 95% желчных кислот всасывается в подвздошной кишке и возвращается в печень, где они опять конъюгируются с таурином и глицином и выделяются в желчь. В результате в желчи находятся и первичные и вторичные желчные кислоты. Весь этот путь желчных кислот называется **энтерогепатическая циркуляция желчных кислот** (рис. 8.36).

В норме количество желчных кислот и холестерола, удаляющихся через кишечник, составляет 1,0—1,3 г за сутки, т.е. более 90% от количества холестерола, которое поступает с пищей и синтезируется в тканях. Так поддерживается гомеостаз этого стероида в организме человека.

6. В составе желчи содержатся: холестерол, желчные кислоты, фосфатидилхолин и пигменты, образующиеся при распаде гема. Холестерол наименее полярное вещество и удерживается в растворенном состоянии только

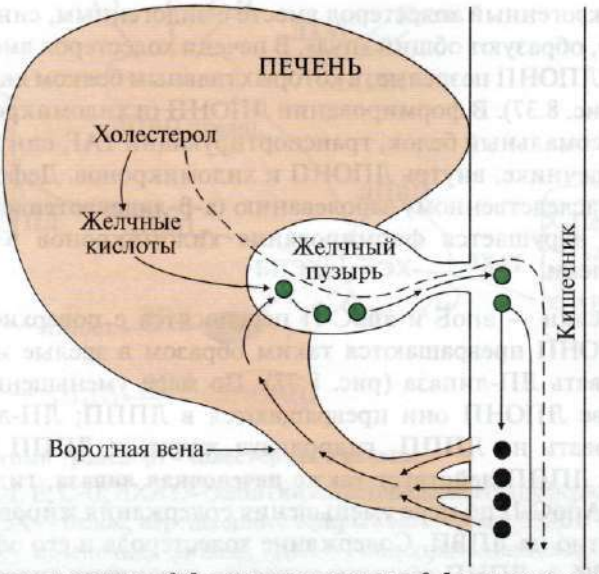


Рис. 8.36. Энтерогепатическая циркуляция желчных кислот

Каждая молекула желчной кислоты 5—8 раз проходит этот путь за сутки и функционирует около 1 недели, прежде чем удаляется с фекалиями.
Зеленые кружки — мицеллы желчи; темные кружки — смешанные мицеллы желчи и продуктов гидролиза ТАГ; ——► экскреция желчных кислот; ------► экскреция холестерола

благодаря включению в мицеллы, образованные желчными кислотами и фосфатидилхолином. Если содержание холестерола в желчи увеличивается или уменьшается количество желчных кислот и фосфатидилхолина, то холестерол выпадает в осадок, образуя камни в желчном пузыре. Камни, состоящие из холестерола, — белые, если в них включаются продукты распада гема, то цвет камней может быть от коричневого до черного.

ТЕМА 8.14. РОЛЬ ЛИПОПРОТЕИНОВ В ТРАНСПОРТЕ ХОЛЕСТЕРОЛА

1. В транспорте холестерола между различными органами участвуют все типы липопротеинов, однако их функции различны. Так, холестерол, полученный с пищей (экзогенный холестерол), в клетках кишечника включается в состав хиломикронов (рис. 8.3) как в форме свободного холестерола, так и в виде эфиров, синтезированных в слизистой кишечника под действием фермента АХАТ. В крови зрелые хиломикроны подвергаются действию ЛП-липазы, которая гидролизует содержащиеся в них жиры. Образующиеся в результате хиломикроны остаточные (ремнантные частицы), содержащие холестерол, захватываются гепатоцитами.

2. В печени экзогенный холестерол вместе с эндогенным, синтезированным в этом органе, образуют общий «пул». В печени холестерол вместе с ТАГ упаковывается в ЛПОНП незрелые, в которых главным белком является апопротеин В-100 (рис. 8.37). В формировании ЛПОНП (и хиломикронов) участвует также микросомальный белок, транспортирующий ТАГ, синтезированные в печени и кишечнике, внутрь ЛПОНП и хиломикронов. Дефект этого белка приводит к наследственному заболеванию (**а-β-липопротеинемии**). При этом заболевании нарушается формирование хиломикронов в кишечнике и ЛПОНП в печени.

3. В крови белки — апоЕ и апоС-II переносятся с поверхности ЛПВП на ЛПОНП; ЛПОНП превращаются таким образом в зрелые и на них начинает действовать ЛП-липаза (рис. 8.37). По мере уменьшения содержания ТАГ в составе ЛПОНП они превращаются в ЛППП; ЛП-липаза продолжает действовать на ЛППП, гидролизуя жиры, и ЛППП превращаются в ЛПНП. На ЛППП действует также **печеночная липаза**, гидролизуя жиры в их составе. АпоС-II по мере уменьшения содержания жиров в ЛППП переносится обратно на ЛПВП. Содержание холестерола и его эфиров в ЛПНП достигает ≈50%, и ЛПНП захватываются по механизму эндоцитоза различными клетками, в том числе и гепатоцитами, с помощью **ЛПНП-рецепторов**, взаимодействующих с апоВ-100 и апо Е.

Рис. 8.37. Транспорт эндогенного холестерола из печени в периферические непеченочные ткани

Холестерол и его эфиры из печени выходят в составе ЛПОНП незрелых. После переноса апо С-II и апо Е с ЛПВП на ЛПОНП они превращаются в зрелые и подвергаются действию ЛП-липазы, находящейся на стенках капилляров. В результате ТАГ гидролизуются и удаляются из ЛПОНП, жирные кислоты и глицерол поступают в различные ткани, а ЛПОНП превращаются в ЛПНП, которые захватываются клетками через специфические ЛПНП рецепторы

4. В «обратном» транспорте холестерола, т.е. выведении избытка холестерола из тканей и крови в печень, главную роль играют ЛПВП. Они синтезируются в виде ЛПВП предшественников в печени и, в небольшом количестве, — в тонкой кишке. Эти липопротеины практически не содержат холестерола, но включают значительное количество фосфолипидов и апопротеинов Е, С-II, А-I, А-II. Незрелые ЛПВП внешне похожи на диски, состоящие из бислоя фосфолипидов, с включенными в него апопротеинами (рис. 8.38).

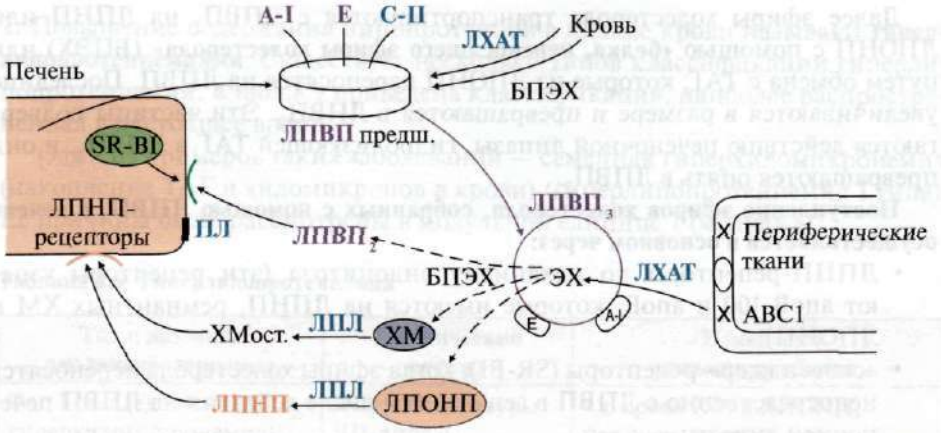


Рис. 8.38. «Обратный транспорт» холестерола в печень:

Апопротеины: A-I, E, C-II; ЛХАТ — лецитинхолестеролацилтрансфераза; ЭХ — эфиры холестерола; БПЭХ — белок, переносящий эфиры холестерола; SR-B1 — «скэвенджер» рецепторы; ПЛ — печеночная липаза; ЛПЛ — липопротеинлипаза; ABC1 — АТФ-связывающий кассетный белок 1 (имеет такое название из-за своей структуры).

Основные пути поступления избытка эфиров холестерола обратно в печень в составе:

- ремнантных липопротеинов, содержащих апоE (хиломикроны остаточные, ЛПНП и ЛППП), которые узнаются ЛПНП-рецепторами;
- из $ЛПВП_2$, подвергающихся действию печеночной липазы на поверхности гепатоцитов, путем переноса эфиров холестерола в гепатоциты через «скэвенджер»-рецепторы

После поступления в кровь ЛПВП сначала выполняют функцию ***донора апоC-II и апоE*** для липопротеинов, содержащих большое количество ТАГ: ХМ и ЛПОНП. Затем ЛПВП начинают «сбор» избытка холестерола из мембран клеток и других липопротеинов крови.

Для этого к поверхности ЛПВП прикрепляется фермент — ЛХАТ-**лецитинхолестеролацилтрансфераза**, который активируется белком апоA-I и катализирует реакцию:

$$\text{Холестерол (лецитин)} + \text{Фосфатидилхолин} \xrightarrow{\text{ЛХАТ}} \text{Эфир холестерола} + \text{2-Лизофосфатилхолин (лизолецитин)}.$$

Эта реакция происходит при контакте ЛПВП с другими липопротеинами. Образовавшиеся гидрофобные эфиры холестерола погружаются в сердцевину ЛПВП, и частицы приобретают сферическую форму, увеличиваются в размерах и превращаются в $ЛПВП_3$. В переносе холестерола из мембран клеток *в ЛПВП участвуют еще несколько белков. ЛПВП могут взаимодействовать с* поверхностью клеток с помощью апоA-I или апоE. Присутствующий в мембранах клеток белок ABC1 (АТФ-связывающий кассетный белок 1) переносит холестерол с мембраны клетки на ЛПВП, где холестерол подвергается действию ЛХАТ и в виде эфиров холестерола накапливается внутри $ЛПВП_3$.

Далее эфиры холестерола транспортируются с $ЛПВП_3$ на ЛПНП или ЛПОНП с помощью **«белка, переносящего эфиры холестерола»** (БПЭХ) или путем обмена с ТАГ, которые из ЛПОНП переносятся на ЛПВП. Последние увеличиваются в размере и превращаются в $ЛПВП_2$. Эти частицы подвергаются действию печеночной липазы, гидролизующей ТАГ в $ЛПВП_2$, и они превращаются опять в $ЛПВП_3$.

Поступление эфиров холестерола, собранных с помощью ЛПВП, в печень осуществляется в основном через:

- ЛПНП-рецепторы по механизму эндоцитоза (эти рецепторы узнают апоВ-100 и апоЕ, которые имеются на ЛПНП, ремнантных ХМ и ЛПОНП);
- «скэвенджер»-рецепторы (SR-BI), когда эфиры холестерола переносятся непосредственно с ЛПВП в гепатоциты после действия на ЛПВП печеночной липазы;
- в меньшей степени эфиры холестерола поступают путем эндоцитоза ЛПВП при взаимодействии их апоЕ с рецепторами.

Таким образом, ЛПВП выполняют функцию удаления избытка холестерола из крови и тканей с последующей доставкой его в печень, поэтому ЛПВП оказывают **антиатерогенное** действие на организм. Благодаря этому свойству врачи часто называют холестерол, находящийся в ЛПВП — «хорошим», а холестерол в ЛПНП «плохим», так как повышение содержания ЛПНП в крови является фактором развития атеросклероза.

ЛПНП и ЛПВП, в отличие от хиломикронов (рис. 8.5), постоянно присутствуют в крови.

5. Избыток холестерола, поступивший в печень, частично превращается в желчные кислоты (рис. 8.36) и удаляется из организма с фекалиями, частично выводится с фекалиями в неизмененном виде. Другими путями из организма выводится лишь небольшое количество холестерола (рис. 8.31).

ТЕМА 8.15. ТИПЫ ДИСЛИПОПРОТЕИНЕМИЙ. БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПАТОГЕНЕЗА И ЛЕЧЕНИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА

1. Отклонение содержания липопротеинов в крови от нормы называют **дислипопротеинемиями**. Снижение содержания каких-либо липопротеинов в крови называется **гиполипопротеинемиями** и наблюдаются они довольно редко. Пример гиполипопротеинемий — болезнь Танжера, которая является следствием генетического дефекта белка ABC1, переносящего холестерол из мембран клеток на ЛПВП. Проявление заболевания низкое (1—5% нормы) содержание в крови ЛПВП, содержание ЛПНП также снижено. У таких больных холестерол накапливается в печени, селезенке, костном мозге, шванновских клетках, что вызывает гепато- и спленомегалию, нейропатию; концентрация холестерола в крови также снижена.

2. Повышение содержания липопротеинов в плазме крови называют ***гиперлипопротеинемиями***. Существует несколько типов классификаций гиперлипопротеинемий; в табл.8.9 приведена классификация, наиболее распространенная в настоящее время.

Один из примеров таких заболеваний — семейная гиперхиломикронемия (накопление ТАГ и хиломикронов в крови) (гиперлипопротеинемия I типа). Ее причины были рассмотрены в модульной единице 1 (модуль 8).

Таблица 8.9. Гиперлипопротеинемии

Тип и название дислипопротеинемии	Генетический дефект	Изменения липидного обмена
Тип I (наследственная гиперхиломикронемия)	Дефект структуры ЛП-липазы. Дефект структуры апо CII	↑ в крови ХМ и ЛПОНП, нет риска атеросклероза
Тип II (семейная гиперхолестеролемия)	Дефект рецепторов ЛПНП или мутация гена апоВ-100	↑ концентрации ЛПНП, гиперхолестеролемия, ранний атеросклероз, ксантоматоз
Тип III (семейная комбинированная гиперлипидемия, нарушение удаления остаточных липопротеинов из крови)	Дефект в структуре апоЕ, синтез изоформы апоE_2, которая не взаимодействует с рецепторами	↑ концентрации остаточных ХМ, ЛПОНП, ЛППП, ЛПНП. Гиперхолестеролемия, гипертриацилглицеролемия, ранний атеросклероз, ксантоматоз
Типы IV и V (семейная гипертриацилглицеролемия)	Генетически гетерогенная группа заболеваний. Избыточная продукция ЛПОНП как результат гиперинсулинемии	↑ концентрации ЛПОНП, ЛПНП, гипертриацилглицеролемия, умеренная гиперхолестеролемия. Атеросклероз, снижение толерантности к глюкозе, ксантоматоз

Наиболее распространенными нарушениями обмена липопротеинов являются заболевания, связанные с повышением холестерола в крови — гиперхолестеролемией. Самым частым заболеванием такого типа является **семейная гиперхолестеролемия** (тип II), причиной которой являются различные мутации в гене белка — рецептора ЛПНП. Гетерозиготы с этой патологией встречаются с частотой 1:500 человек.

Этот ген имеет очень сложную структуру, включает большое количество интронов и экзонов, и для него описано более 300 типов различных мутаций. Они в большей или меньшей степени повреждают структуру рецептора, нарушают его способность к эндоцитозу после взаимодействия с ЛПНП. Это приводит к развитию гиперхолестеролемии и раннему атеросклерозу.

Атеросклероз представляет собой заболевание, при котором поражается внутренний слой артерий за счет отложения холестерола в интиме сосудов.

В таких местах образуется атеросклеротическая бляшка, нарушающая свойства внутренней поверхности артерий, приводящая к нарушению тока крови и являющаяся местом возможного образования тромба. Последствиями этого являются инфаркт миокарда, инсульт и т.д.

3. Для выяснения степени предрасположенности пациентов к развитию атеросклероза рассчитывают коэффициент атерогенности в крови, взятой натощак:

$$\frac{X_{общ} - X_{лпвп}}{X_{лпвп}}, \text{ что приблизительно соответствует соотношению: } \frac{X_{лпнп}}{X_{лпвп}},$$

где $X_{общ}$ — холестерол общий;
$X_{лпвп}$ — холестерол ЛПВП.

В норме это соотношение должно быть <3,5. Чем выше его значение, тем выше риск развития атеросклероза.

4. Другим генетическим фактором риска развития атеросклероза является необычная форма ЛПНП, содержащих аполипопротеин (а) — гликопротеин, связанный дисульфидной связью с апоВ-100. Течение этой формы атеросклероза, в отличие от других, не поддается лечению путем изменения питания.

5. Молекулярных причин, приводящих к развитию атеросклероза, очень много, например, различные нарушения структуры или ЛПНП-рецепторов или самих ЛПНП в результате модификаций белкового или липидного компонента, что может происходить при увеличении активности перекисного окисления липидов или в результате гликозилирования белков — ковалентного связывания их с глюкозой. Такие измененные ЛПНП (или множественно модифицированные ЛПНП), становясь «чужеродными» компонентами, захватываются макрофагами, которые в результате этого превращаются в «пенистые клетки». Эти клетки, «нагруженные» холестеролом, проникают через промежутки между клетками эндотелия в интиму сосудов и там разрушаются. Холестерол накапливается в этом участке, что является начальной стадией формирования атеросклеротических бляшек.

6. Биохимические подходы к лечению атеросклероза включают:

Изменение питания:

- снижение потребления холестерола (<300 мг/сутки);
- снижение калорийности питания за счет как жиров, так и углеводов;
- увеличение потребления витаминов-антиоксидантов (С, Е).

Изменение образа жизни:

- отказ от курения (курение повышает скорость свободнорадикального окисления липидов, в том числе в ЛПНП);
- увеличение физических нагрузок, что повышает синтез ЛПВП.

Медикаментозное лечение заключается в применении:

- ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы — статинов, которые тормозят синтез эндогенного холестерола, и это усиливает захват холестерола из крови;
- полимеров, например, холестероламина, адсорбирующего желчные кислоты и прерывающего энтерогепатическую циркуляцию. В результате увеличивается захват холестерола печенью и окисление его в желчные кислоты;
- *ниацина (никотиновой кислоты и ее производных), который уменьшает* образование ЛПОНП и липолиз в жировой ткани;
- фибратов, которые, действуя через рецепторы, увеличивают синтез ЛП-липазы, апоА-I, апоА-II, понижают содержание ТАГ в крови и повышают содержание ЛПВП.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Напишите реакции гидролиза и ресинтеза эфиров холестерола, которые *происходят в кишечнике при поступлении экзогенного холестерола.* Укажите соответствующие ферменты.

2. Напишите схему метаболического пути, который поставляет ацетил-КоА — исходный субстрат для синтеза холестерола, и рассчитайте, сколько молекул ацетил-КоА и NADPH необходимо для синтеза одной молекулы мевалоната.

3. Используя предыдущий ответ и рис. 8.32, рассчитайте, сколько молекул ацетил-КоА необходимо для синтеза одной молекулы холестерола.

4. Составьте схему, показывающую, как изменяется синтез холестерола в абсорбтивный и постабсорбтивный периоды. Укажите роль соответствующих гормонов.

5. Напишите реакции конъюгации желчных кислот, укажите их значение и, *используя полученные формулы, покажите, как изменяются свойства* конъюгатов желчных кислот по сравнению с исходными кислотами.

6. Используя рис. 8.30, опишите путь экзогенного холестерола в печень.

7. Составьте схему, показывающую поступление холестерола из ЛПОНП в другие ткани.

8. Перенесите табл. 8.10 в тетрадь. Заполните ее, сравнив свойства холестерола и его эфиров, поставив «+» или «—» в соответствующей графе.

9. Перенесите в тетрадь и заполните табл. 8.11.

Таблица 8.10. Сравнение свойств холестерола и его эфиров

	Холестерол	Эфиры холестерола
1. Находится в составе мембран клеток		
2. Преимущественная форма в составе ЛПНП		
3. Образуется в кишечнике под действием холестеролэстеразы		
4. Образуется в кишечнике под действием АХАТ		
5. Непосредственный субстрат для синтеза желчных кислот		
6. Образуется в ЛПВП		
7. Переносится с ЛПВП на ЛПОНП		
8. Форма депонирования в клетках		
9. Корепрессор транскрипции гена ГМГ-КоА-редуктазы		
10.В печени упаковывается в ЛПОНП		
11. В кишечнике упаковывается в ХМ незр.		

Таблица 8.11. Факторы, обусловливающие развитие гиперхолестеролемии

Генетические факторы	Алиментарные факторы
1.	1.
2.	2.
3.	3.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильный ответ.

В молекуле холестерола количество атомов углерода, происходящих из ацетил-КоА, составляет:

А. 35
Б. 21
В. 27
Г. 24
Д. 15

2. Установите правильную последовательность событий.

При ассимиляции экзогенного холестерола происходит:

А. Реакция под действием фермента АХАТ
Б. Транспорт в составе хиломикронов
В. Всасывание в составе смешанных мицелл
Г. Захват ХМ ост. гепатоцитами
Д. Гидролиз эфиров холестерола под действием холестеролэстеразы

3. Выберите правильные ответы.

Фермент ГМГ-КоА-редуктаза активен при:

А. Снижении концентрации глюкозы в крови
Б. Действии на него киназы
В. Повышении секреции инсулина
Г. Поступлении избытка холестерола с пищей
Д. Действии на него фосфатазы

4. Выберите правильные ответы.

Укажите, кому из пациентов необходимо сделать дополнительные исследования для расчета коэффициента атерогенности, если содержание холестерола в крови у них составляет:

А. 260 мг/дл
Б. 150 мг/дл
В. 240 мг/дл
Г. 4,8 мМоль/л
Д. 6,8 мМоль/л

5. Установите соответствие.

Характеристика:

А. Образуется в кишечнике
Б. Продукт реакции конъюгации
В. Образуется в поджелудочной железе
Г. Содержит четыре гидроксильные группы
Д. Образуется под действием 7α- и 12α-гидроксилаз

Желчные кислоты:

1. Таурохенодезоксихолевая
2. Литохолевая
3. Холевая

6. Установите правильную последовательность событий.

При транспорте холестерола из печени в другие ткани происходит:

А. Взаимодействие апоВ-100 с ЛПНП-рецепторами
Б. Образование ЛППП
В. Формирование структуры ЛПОНП незр.
Г. Действие ЛП-липазы
Д. Перенос апоЕ и С-II с ЛПВП на ЛПОНП
Е. Синтез апоВ-100

7. Установите правильную последовательность событий.

В ходе формирования и превращений ЛПВП происходит:

А. Образование $ЛПВП_3$

Б. Перенос апоС-II и апоЕ на хиломикроны и ЛПОНП незр

В. Формирование ЛПВП незр.

Г. Этерификация холестерола под действием ЛХАТ и его перенос с поверхности клеток внутрь ЛПВП

Д. Превращение $ЛПВП_3$ в $ЛПВП_2$

8. Установите соответствие.

Характеристика состава липопротеина:

А. Содержит ≈55% ТАГ

Б. Холестерол и его эфиры составляют ≈50%

В. Донор апоЕ и С-II

Г. На поверхности расположены ЛХАТ и его активатор А-I

Д. Основной белок апоВ-48

Липопротеин:

1. ЛПОНП
2. ЛПНП
3. ЛПВП зрелый

9. Выберите правильные ответы.

Риск развития желчнокаменной болезни увеличивается при:

А. Повышенной активности ГМГ-КоА-редуктазы

Б. Повышенной активности 7α-гидроксилазы

В. Употреблении в основном растительной пищи

Г. Потреблении избытка углеводов

Д. Избыточном потреблении мясной пищи

10. Выберите правильные ответы.

Риск развития гиперхолестеролемии увеличивается при:

А. Изменении структуры ЛПНП в результате перекисного окисления липидов

Б. Мутациях в гене белка-рецептора ЛПНП

В. Гиперкалорийном питании

Г. Снижении активности ГМГ-КоА-редуктазы

Д. Значении коэффициента атерогенности, равном трем

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ИЗУЧАЕМЫЕ В МОДУЛЬНОЙ ЕДИНИЦЕ

Концентрация холестерола в крови: <200 мг/дл, <5,2 ммоль/л

Коэффициент атерогенности: $\frac{X_{общ.} - X_{лпвп}}{X_{лпвп}}$,

где X — холестерол.

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. В
2. Д, В, А, Б, Г
3. В, Д
4. А, В, Д
5. 1—Б, 2—А, 3—Д
6. Е, В, Д, Г, Б, А
7. В, Б, Г, А, Д
8. 1—А, 2—Б, 3—Г
9. А, Г, Д
10. А, Б, В

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Транспорт экзогенного холестерола хиломикронами
2. Биосинтез холестерола, пути использования в организме
3. ГМГ-КоА редуктаза — регуляторный фермент синтеза холестерола
4. Желчные кислоты: первичные, вторичные, биосинтез, конъюгация
5. Желчнокаменная болезнь
6. Энтерогепатическая циркуляция желчных кислот
7. Роль ЛПОНП, ЛПНП и ЛПВП в транспорте холестерола
8. ЛПНП-рецепторы
9. «Обратный» транспорт холестерола
10. Гиперхолестеролемия и атеросклероз
11. Дислипопротеинемии
12. Биохимические основы развития атеросклероза
13. Семейная гиперхолестеролемия

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Женщина 50 лет в течение нескольких лет ежедневно получает с пищей около 600 г углеводов, 80 г белков и 80 г жиров в основном растительного происхождения, физическим трудом не занимается. Объясните, как повлияет такой образ жизни на обмен холестерола. Для этого:

а) напишите краткие схемы метаболических путей, поставляющих субстраты для синтеза холестерола;

б) укажите гормон, увеличивающий скорость этих путей;

в) напишите схему синтеза холестерола;

г) укажите, как и через какие механизмы меняется активность синтеза холестерола при таком образе жизни.

2. Экспериментальные животные получали с пищей жиры, в которых все атомы углерода были радиоактивны. Через некоторое время радиоактивные атомы углерода были обнаружены в крови в составе эфиров холестерола в липопротеинах, транспортирующих экзогенные липиды из кишечника. Укажите возможные пути попадания радиоактивного углерода из жиров пищи в эфиры холестерола липопротеинов (выполняющих у животных те же функции, что и хиломикроны у человека). Решите задачу, написав все соответствующие реакции и схемы.

3. У женщины 40 лет периодически появлялись острые боли в правом подреберье, иногда после таких приступов развивалась желтуха. При УЗ-исследовании были обнаружены камни в желчном пузыре. Объясните молекулярные механизмы развития желчнокаменной болезни. Для этого:

а) напишите схему синтеза первичных желчных кислот и их конъюгации, отметьте регуляторный фермент;
б) представьте схему гормональной регуляции этого фермента;
в) перечислите особенности питания, способствующие развитию желчнокаменной болезни;
г) опишите возможный состав камней в желчном пузыре и причины их формирования;
д) объясните, почему на начальных этапах заболевания таким больным в качестве лекарства прописывают препарат уросан (урсодезоксихолевая кислота, по своим свойствам сходная с желчными кислотами, синтезируемыми в организме человека).

4. При исследовании состава желчи в ней обнаружены не только первичные, но и вторичные желчные кислоты. Объясните причины этого явления, ответив на следующие вопросы и выполнив задания:

а) напишите формулы первичных желчных кислот;
б) составьте схему, показывающую дальнейшие превращения желчных кислот в печени и кишечнике;
в) напишите формулы вторичных желчных кислот, сравните их структуру; укажите, какая из них быстрее выделяется с фекалиями и почему;
г) перечислите состав основных компонентов мицелл желчи.

5. При обследовании у больного 40 лет обнаружена гиперхолестеролемия. При сборе анамнеза выяснилось, что отец больного умер в 45 лет от инфаркта миокарда. Врач назначил строгую диету и лечение ловастатином. На схемах (рис. 8.39) показано изменение у больного количества ЛПНП-рецепторов на поверхности клеток при лечении статинами: А — до начала лечения; Б — через 60 дней после начала лечения. Концентрация общего холестерола в крови до начала лечения была 400 мг/дл, после лечения — 250 мг/дл. Сравните схемы А и Б на рис. 8.39 и объясните механизм снижения концентрации холестерола в крови после лечения ловастатином.

Для этого:

а) укажите возможные причины уменьшения количества рецепторов на поверхности клеток у больного до начала лечения; какое заболевание можно предположить в данном случае?

б) назовите все возможные причины гиперхолестеролемии;

в) напишите реакцию, ингибируемую ловастатином; перерисуйте схемы А и Б в тетрадь и в схеме Б укажите место действия лекарства;

г) опишите механизмы, приводящие к увеличению количества рецепторов на поверхности клеток в результате лечения.

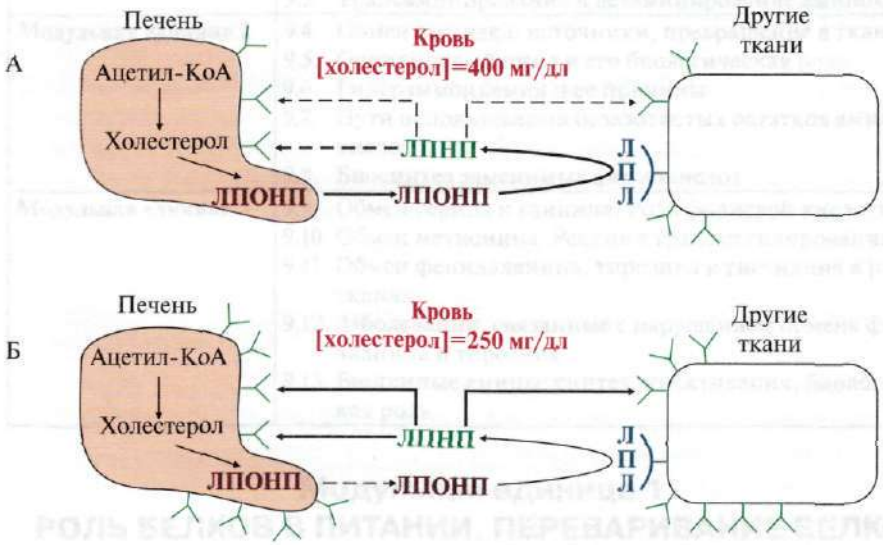


Рис. 8.39. Влияние ловастатина на количество рецепторов ЛПНП и концентрацию холестерола в крови

А — до начала лечения; Б — через 60 дней после начала лечения.
------► активность низкая; ——► активность высокая;
ЛПЛ — липопротеинлипаза

6. *У двух мужчин 60 лет определяли концентрацию общего холестерола и* холестерола в ЛПВП. У пациента А: холестерол общий — 280 мг/дл, холестерол ЛПВП — 60 мг/дл; у пациента Б: холестерол общий — 280 мг/дл, холестерол ЛПВП — 50 мг/дл. Оцените полученные данные. Для этого:

а) рассчитайте коэффициент атерогенности и определите, у кого из пациентов выше риск развития атеросклероза и его осложнений;

б) составьте схему, показывающую роль ЛПВП в обмене холестерола;

в) объясните, почему ЛПНП называют «атерогенными» липопротеинами, а ЛПВП — «антиатерогенными».

7. Фармацевтическая компания планирует создание новых препаратов, уменьшающих риск развития атеросклероза и его последствий — инфаркта миокарда и инсульта. Поступили предложения создавать препараты:

а) стимулирующие транскрипцию гена ЛХАТ;

б) стимулирующие транскрипцию белка ABC1;

в) новые ингибиторы простагландинсинтазы.

Докажите обоснованность таких предложений, составив соответствующие схемы, и напишите схемы реакций, в которых участвуют эти белки.

Модуль 9

ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ

Структура модуля	Темы
Модульная единица 1	9.1. Роль белков в питании. Азотистый баланс 9.2. Переваривание белков в желудке и кишечнике, всасывание аминокислот 9.3. Трансаминирование и дезаминирование аминокислот
Модульная единица 2	9.4. Обмен аммиака: источники, превращение в тканях 9.5. Орнитиновый цикл и его биологическая роль 9.6. Гипераммониемия и ее причины 9.7. Пути использования безазотистых остатков аминокислот 9.8. Биосинтез заменимых аминокислот
Модульная единица 3	9.9. Обмен серина и глицина. Роль фолиевой кислоты 9.10. Обмен метионина. Реакции трансметилирования 9.11. Обмен фенилаланина, тирозина и гистидина в разных тканях 9.12. Заболевания, связанные с нарушением обмена фенилаланина и тирозина 9.13. Биогенные амины: синтез, инактивация, биологическая роль

Модульная единица 1
РОЛЬ БЕЛКОВ В ПИТАНИИ. ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ И ВСАСЫВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ. ПРОЦЕССЫ ТРАНСАМИНИРОВАНИЯ И ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ АМИНОКИСЛОТ

Цели изучения

Уметь:

1. Использовать знания о составе белков пищи для понимания основ рационального питания.
2. Применять знания о переваривании белков в норме для объяснения патогенеза заболеваний, возникающих при нарушениях этого процесса.
3. Интерпретировать результаты анализа желудочного сока при заболеваниях желудочно-кишечного тракта.
4. Использовать данные определения активности аланин- и аспартатаминотрансфераз в сыворотке крови для диагностики заболеваний сердца и печени.

Знать:

1. Основы полноценного белкового питания, обеспечивающие поддержание азотистого баланса.
2. Этапы переваривания белков в желудочно-кишечном тракте, особенности синтеза и активации протеолитических пищеварительных ферментов.
3. Механизмы защиты секреторных клеток желудка и поджелудочной железы от самопереваривания.
4. Классификацию аминокислот по возможности их синтеза в организме.
5. Процесс трансаминирования и способы дезаминирования аминокислот, биологическое значение этих процессов.

ТЕМА 9.1. РОЛЬ БЕЛКОВ В ПИТАНИИ. АЗОТИСТЫЙ БАЛАНС

В организме человека содержится примерно 15 кг белков. Количество свободных аминокислот составляет около 35 г. Ежесуточно в организме распадается до аминокислот почти 400 г белков и столько же синтезируется.

1. Основным источником аминокислот для человека являются пищевые белки. Суточная норма потребления белков составляет в среднем около 100 г.

20 α-аминокислот, которые встречаются в белках организма, можно разделить на четыре группы:

- **заменимые аминокислоты — Ала, Асп, Асн, Глу, Гли, Про, Гли, Сер** — синтезируются в необходимых количествах в организме;
- **незаменимые аминокислоты — Вал, Лей, Иле, Мет, Фен, Три, Лиз, Тре** — не могут синтезироваться в организме и должны поступать с пищей;
- **частично заменимые аминокислоты — Гис, Арг** — синтезируются очень медленно, в количествах, не покрывающих потребности организма, особенно в детском возрасте;
- **условно заменимые аминокислоты — Цис, Тир** — синтезируются из незаменимых аминокислот Мет и Фен соответственно.

2. Полноценность белкового питания зависит от аминокислотного состава белков и определяется наличием **незаменимых аминокислот**. Отсутствие в пищевых белках незаменимых аминокислот (даже одной) нарушает их синтез в организме. Обновление белков в различных тканях происходит с разной скоростью. Так, белок соединительной ткани коллаген обновляется полностью за 300 дней, а белки системы свертывания крови — от нескольких минут до нескольких дней.

3. Большая часть свободных аминокислот используется для синтеза собственных белков организма. Кроме того, из аминокислот синтезируется большое количество биологически активных молекул:

- биогенные амины (медиаторы); некоторые аминокислоты сами являются нейромедиаторами — например, глицин и глутамат;

- гормоны белковой природы;
- гем, креатин, карнитин и другие азотсодержащие соединения.

Аминокислоты подвергаются реакции дезаминирования; образовавшиеся безазотистые остатки используются для синтеза глюкозы, кетоновых тел или окисляются до CO_2 и H_2O.

Азот аминокислот выводится из организма почками в виде мочевины или аммонийных солей. Аминокислоты и белки содержат до **95% всего азота организма**.

4. Азотистый баланс — разница между количеством азота, поступающего с пищей, и количеством азота, выделяемого почками в виде мочевины и азотистых солей. Он является показателем состояния белкового и аминокислотного обмена.

Азотистый баланс может быть:

- **положительным** — у детей, беременных женщин, при увеличении мышечной массы у спортсменов и больных, выздоравливающих после тяжелой болезни, что свидетельствует о преобладании синтеза белков и роста тканей над их распадом;
- **отрицательным** — при тяжелых заболеваниях, голодании, старении, что свидетельствует об усилении процессов распада белков;
- **равным нулю (азотистое равновесие)** — у здоровых взрослых людей при нормальном питании.

ТЕМА 9.2. ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ В ЖЕЛУДКЕ И КИШЕЧНИКЕ, ВСАСЫВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

1. При переваривании происходит гидролиз пищевых белков до свободных аминокислот. Процесс переваривания начинается в желудке и продолжается в тонком кишечнике под действием ферментов **пептидгидролаз (пептидаз)**. Основные пептидазы синтезируются в клетках желудка, поджелудочной железы и кишечника (рис. 9.1). В **желудке** белки пищи денатурируются и гидролизуются с образованием олигопептидов. В **кишечнике** панкреатические пептидазы продолжают гидролиз олигопептидов до ди- и трипептидов и свободных аминокислот. Короткие пептиды расщепляются до свободных аминокислот в **пристеночном слое** или в клетках кишечного эпителия. Затем происходит их всасывание.

Все **пептидазы**, в зависимости от места расположения в пептиде гидролизуемой связи, делятся на **эндопептидазы** и **экзопептидазы:**

- **эндопептидазы** — расщепляют пептидные связи, удаленные от концов пептидной цепи (*пепсин, трипсин, химотрипсин, эластаза*);
- **экзопептидазы** — гидролизуют пептидные связи, образованные N- и C-концевыми аминокислотами (*аминопептидаза, карбоксипептидазы А и В*), а также расщепляют ди- и трипептиды.

Рис. 9.1. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте

Ферменты, участвующие в переваривании белков, обладают относительной субстратной специфичностью и гидролизуют пептидные связи; при этом каждая пептидаза преимущественно расщепляет связи, образованные определенными аминокислотами (табл. 9.1).

2. Желудочные и панкреатические пептидазы вырабатываются в неактивной форме (**проферменты**), секретируются к месту действия, где активируются **путем частичного протеолиза** (отщепление пептида различной длины, чаще с N-конца молекулы профермента). **Место синтеза проферментов** (клетки слизистой оболочки желудка, поджелудочная железа) и **место их активации** (полость желудка, тонкого кишечника) **пространственно разделены.** Такой механизм образования активных ферментов необходим для защиты секреторных клеток желудка и поджелудочной железы от самопереваривания.

Таблица 9.1. Характеристика протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта

Место синтеза	Место действия	pH	Активация пептидаз			Специфичность действия
			Профермент	Активатор	Активный фермент	
Слизистая желудка	Полость желудка	1,5—2,0	Пепсиноген Пепсиноген	HCl — медленно Пепсин — быстро	**Пепсин**	—Х—Тир—Х— —Х—Фен—Х— —Лей—Глу—
Поджелудочная железа	Полость тонкой кишки	7,0—7,8	Трипсиноген	Энтеропептидаза	**Трипсин**	—Арг—Х— —Лиз—Х—
			Химотрипсиноген	Трипсин	**Химотрипсин**	—Три—Х— —Фен—Х— —Тир—Х—
			Проэластаза	Трипсин	**Эластаза**	—Гли—Ала—
			Прокарбоксипептидазы А, Б	Трипсин	**Карбоксипептидазы А, Б**	—Х—NH—CH(R)—COOH Карбоксипептидаза А отщепляет аминокислоту с гидрофобным радикалом, карбоксипептидаза Б —Лиз или Арг
Тонкий кишечник	Пристеночный слой	7,0 —7,8	**Аминопептидазы** **Ди-(три-)пептидазы**			H_2N—CH(R)—CO—Х— Ди-(три-)пептиды

Примечание: Х — любая аминокислота

Преждевременная активация проферментов в секреторных клетках происходит при:

- *язвенной болезни желудка* — пепсиноген превращается в пепсин в клетках слизистой желудка;
- *остром панкреатите* — трипсиноген превращается в трипсин в клетках поджелудочной железы и активирует остальные панкреатические пептидазы.

3. Слизистая оболочка желудка вырабатывает следующие факторы, необходимые для переваривания белков:

- **пепсиноген** — синтезируется в главных клетках;
- **соляную кислоту** — вырабатывается обкладочными клетками.

Гидролиз белков **в желудке** происходит под действием **пепсина**. Профермент пепсиноген при поступлении пищи секретируется в полость желудка, где в два этапа происходит его активация:

- с помощью HCl — медленно;
- аутокаталитически — быстро, уже имеющимся пепсином.

Соляная кислота желудочного сока выполняет следующие функции:

- участвует в активации пепсиногена;
- создает оптимум pH для пепсина;
- оказывает бактерицидное действие;
- денатурирует белки пищи.

Значение **pH желудочного сока в норме составляет 1,5—2,0**. Определение кислотности желудочного сока используется для диагностики различных заболеваний желудка (табл. 9.2).

Таблица 9.2. Компоненты желудочного сока в норме и при патологических состояниях

	pH	Кислотность			Пепсин	Фактор Касла	Молочная кислота	Кровь
		Общая	Связанная HC1	Свободная HC1				
Норма	1,5—2,0	40—60	20—30	20—40	+	+	–	–
Гиперацидный гастрит	1,0	80		40	+	±	–	–
Гипоацидный гастрит	2,5	40		20	±	±	±	–
Ахилия	7,0	20		–	–	–	+	–
Язва желудка	1,5			40	+	+	–	+
Рак желудка	2,0	60 40—60		20	+	+	+	+

- **Общая кислотность желудочного сока** — это совокупность всех кислотореагирующих веществ желудочного сока, представляющая собой секрет желудка, собираемый в течение 1 часа (предварительно отбирают секрет, ранее содержащийся в желудке).
- **Связанная соляная кислота** — это соляная кислота, связанная с белками и продуктами их переваривания.

- **Свободная соляная кислота** — это соляная кислота, не связанная с другими молекулами.
- **Общая кислотность желудочного сока выражается в титрационных единицах (ТЕ)** и измеряется количеством 0,1 М NaOH в миллилитрах, затраченным на титрование 100 мл желудочного сока в присутствии определенных индикаторов.
- **Кислотность желудочного сока** в норме составляет:
  общая 40—60 ТЕ;
  связанная HCl 20—30 ТЕ;
  свободная HCl 20—40 ТЕ.

При диагностике заболеваний желудка помимо биохимических анализов обязательно проводят рентгенологические и эндоскопические исследования, иногда биопсию.

В слизистой оболочке желудка вырабатывается также **внутренний фактор (фактор Касла)**, который представляет собой белок, способствующий всасыванию витамина B_{12} в тонкой кишке. Отсутствие этого витамина часто приводит к развитию анемии.

Молочная кислота в норме в желудочном соке отсутствует. Образуется при уменьшении содержания или отсутствии свободной соляной кислоты в результате усиленного размножения молочнокислых бактерий или при злокачественных опухолях желудка.

HCl и пепсин способны разрушать клетки эпителия желудка. В норме это не происходит благодаря наличию защитных факторов слизистой оболочки, таких, как:

- образование на поверхности слизи, содержащей гетерополисахариды, которые не являются субстратами пептидгидролаз;
- секреция эпителиальными клетками ионов HCO_3^-, создающих в пристеночном слое менее агрессивную среду с pH 5,0—6,0, в которой пепсин неактивен. Кроме того, клетки поврежденного эпителия обладают способностью к быстрой регенерации.

Пепсин гидролизует пептидные связи, образованные аминогруппой или карбоксильной группой ароматических аминокислот (см. табл. 9.1):

↓ ↓ ↓ ↓ ↓

—Х—Фен—Х—, —Х—Тир—Х— и связь между **—Лей—Глу—**,

где Х — любая аминокислота.

4. Переваривание белков в кишечнике происходит под действием:

- ферментов поджелудочной железы — трипсина, химотрипсина, эластазы, карбоксипептидаз А и Б;
- ферментов эпителия тонкой кишки — аминопептидазы, дипептидаз, трипептидаз.

Активная форма **трипсина** образуется в кишечнике при участии фермента энтеропептидазы, выделяемого клетками кишечника. **Энтеропептидаза** отщепляет от N-конца трипсиногена гексапептид (рис. 9.2), что приводит к изменению конформации молекулы и формированию активного центра трипсина.

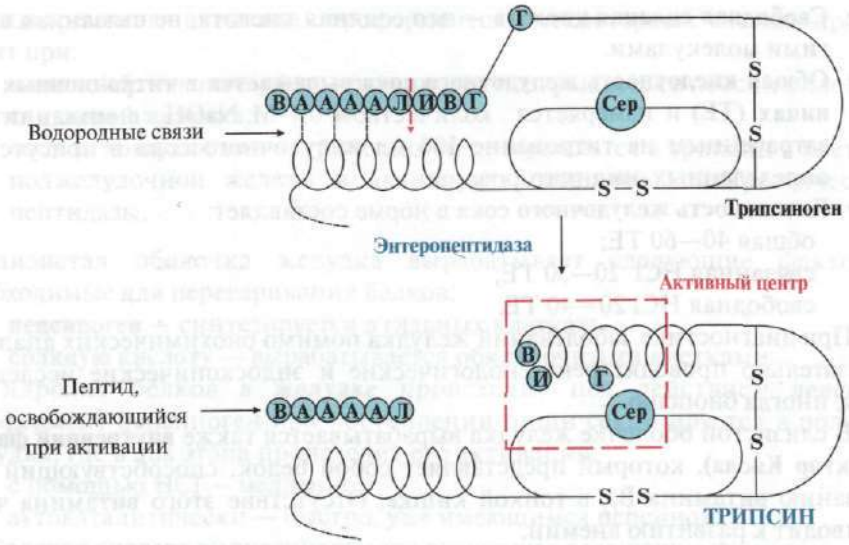


Рис. 9.2. Механизм активации трипсиногена.

Пунктирная стрелка — место гидролиза. Буквами обозначены аминокислоты (А — асп, Г — глу, В — вал, Л — лиз, И — иле)

Остальные **проферменты панкреатического сока** (химотрипсиноген, прокарбоксипептидазы А и В, проэластаза) активируются **трипсином**. Активация панкреатических пептидаз в кишечнике происходит в виде каскада реакций.

Ферменты эпителия тонкой кишки синтезируются в энтероцитах сразу **в активной форме**.

Ферменты, участвующие в переваривании белков в кишечнике, **обладают субстратной специфичностью** к определенным аминокислотам в белке:

- **Трипсин** гидролизует преимущественно пептидные связи, образованные карбоксильными группами катионогенных аминокислот:

—Арг—X—, —Лиз—X— ;

- **Химотрипсин** — пептидные связи, образованные карбоксильными группами ароматических аминокислот:

↓ ↓ ↓

—Фен—Х—, —Тир—Х—, —Три—Х—;

- **Эластаза** — связь между **—Гли—Ала—**
- **Карбоксипептидазы** отщепляют С-концевые аминокислоты:
  карбоксипептидаза **А** — гидрофобные аминокислоты,
  карбоксипептидаза **В — Лиз** и **Арг**;
- **Аминопептидаза** — отщепляет N-концевые аминокислоты;
- **Дипептидаза** — гидролизует дипептиды;
- **Трипептидаза** — расщепляет трипептиды на отдельные аминокислоты.

5. Конечным результатом переваривания белков является образование свободных аминокислот, поступающих в клетки слизистой оболочки кишечника, путем **вторично-активного транспорта** за счет градиента концентрации натрия (симпорт). Всасывание L-аминокислот является активным, требующим затраты энергии процессом. Транспорт их осуществляется двумя путями:

- через воротную систему печени;
- по лимфатическим сосудам, сообщающимся с кровью через грудной лимфатический проток.

Аминокислоты конкурируют друг с другом за специфические участки связывания белков-переносчиков. Так, всасывание лейцина в больших количествах уменьшает всасывание изолейцина и валина. В крови максимальная концентрация аминокислот достигается через 30—50 минут после приема белковой пищи. Свободные аминокислоты, в отличие от белков пищи, лишены видовой специфичности и не обладают антигенными свойствами.

Скорость проникновения аминокислот через мембраны клеток различается, что указывает на существование транспортных систем, обеспечивающих перенос аминокислот через мембраны. Известно пять специфических транспортных систем для переноса определенной группы близких по строению аминокислот:

- нейтральных с короткой боковой цепью (**аланин, серин, треонин**);
- нейтральных с длинной или разветвленной боковой цепью (**валин, лейцин, изолейцин**);
- с катионными радикалами (**лизин, аргинин**);
- с анионными радикалами (**глутаминовая и аспарагиновая кислоты**);
- иминокислот (**пролин, оксипролин**).

Переносчики аминокислот первой и пятой групп, а также переносчик метионина относятся к числу Na^+-зависимых. Независимые от Na^+ переносчики специфичны для некоторых нейтральных аминокислот (фенилаланин, лейцин) и аминокислот с катионными радикалами (лизин).

Одной из основных транспортных систем для нейтральных аминокислот является **γ-глутамильный цикл**, который функционирует в почках, поджелудочной железе, печени и селезенке, в мозге и других тканях он содержится в очень небольших количествах (рис. 9.3).

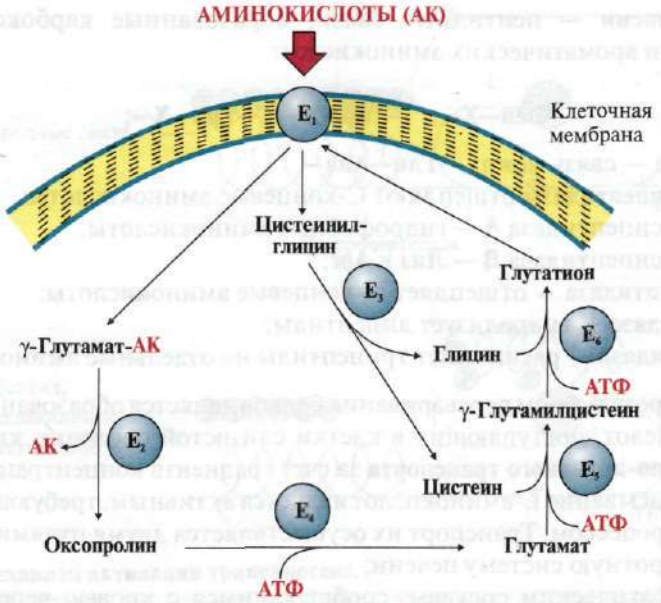


Рис. 9.3. γ-Глутамильный цикл:
E_1 — γ-глутамилтранспептидаза (γ-ГТ); E_2 — γ-глутамилциклотрансфераза; E_3 — пептидаза; E_4 — оксопролиназа; E_5 — γ-глутамилцистеинсинтетаза; E_6 — глутатионсинтетаза.

Система состоит из одного мембранного и пяти цитоплазматических ферментов. Перенос аминокислоты внутрь клетки осуществляется в комплексе с глутамильным остатком глутатиона под действием фермента γ-ГТ. Затем аминокислота освобождается, а γ-глутамильный остаток в несколько стадий превращается в глутатион, который способен присоединять следующую молекулу аминокислоты

Ключевую роль в работе системы играет мембранный фермент **γ-глутамилтранспептидаза (γ-ГТ)**. Этот гликопротеин катализирует перенос γ-глутамильной группы с глутатиона (γ-глутамилцистеинилглицин) или другого γ-глутамильного пептида на транспортируемую аминокислоту и последующий перенос комплекса в клетку. Глутатион содержится во всех тканях животных. Для транспорта в клетку одной молекулы аминокислоты с участием γ-глутамильного цикла затрачивается три молекулы АТР.

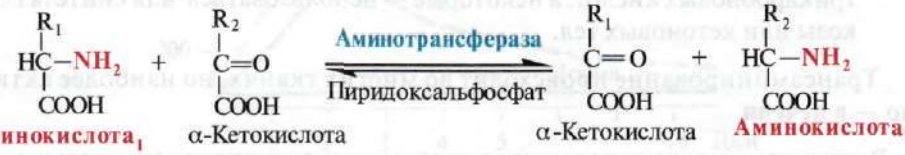
γ-ГТ в больших количествах содержится в почках, поджелудочной железе, печени и других тканях. Активность фермента в сыворотке крови в норме составляет 30—50 МЕ/л (мкмоль/мин·мг) для мужчин и 25—35 МЕ/л для женщин. Определение активности γ-ГТ в сыворотке крови используется для диагностики заболеваний печени и сердца. γ-ГТ-тест используется также в качестве маркера рака поджелудочной железы, печени, предстательной железы и для обнаружения людей из группы раннего риска алкоголизма, для контроля за лечением хронического алкоголизма.

ТЕМА 9.3. ТРАНСАМИНИРОВАНИЕ И ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

1. Промежуточный обмен аминокислот чаще всего начинается с отщепления **α-аминогруппы** от аминокислоты. Это происходит с помощью двух типов реакций:

- трансаминирования;
- дезаминирования.

Трансаминирование — реакция переноса аминогруппы с аминокислоты (донора) **на α-кетокислоту** (акцептор), в результате чего образуются новая кетокислота и новая аминокислота. Реакция обратима.



Реакция трансаминирования происходит с участием ферментов аминотрансфераз (трансаминаз), которые локализованы в цитозоле и митохондриях клеток практически всех органов. Коферментом этих ферментов является производное витамина B_6 — **пиридоксальфосфат**. Трансаминированию подвергаются все аминокислоты, кроме **лизина, треонина и пролина**.

Аминотрансферазы обладают субстратной специфичностью к разным аминокислотам. В тканях человека обнаружено более 10 различных аминотрансфераз. Наиболее распространенными являются:

- **аспартатаминотрансфераза** (АСТ), по обратной реакции — глутамат-оксалоацетаттрансаминаза;
- **аланинаминотрансфераза** (АЛТ), по обратной реакции — глутамат-пируваттрансаминаза.

Название каждой аминотрансферазы включает названия субстратов:

- донора аминогруппы (аминокислоты);
- акцептора аминогруппы (α-кетокислоты).

Например, фермент, катализирующий реакцию

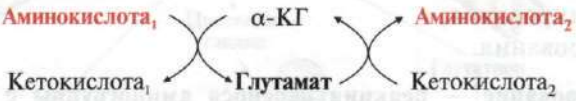
Глутамат + Оксалоацетат ⟷ α-Кетоглутарат + Аспартат

называется глутаматоксалоацетатаминотрансфераза. По субстратам обратной реакции этот фермент называется аспартатаминотрансферазой (АСТ). Название акцептора — α-кетоглутарата — из названия фермента обычно исключается, так как эта кетокислота является основным акцептором аминогрупп в организме.

Основными донорами аминогрупп в реакциях трансаминирования являются **глутамат, аспартат** и **аланин**.

Реакции трансаминирования играют большую роль в обмене аминокислот.

- Путем трансаминирования из соответствующих α-кетокислот **синтезируются заменимые аминокислоты**, если их в данный момент в ткани недостаточно. Таким образом происходит **перераспределение аминного азота** в тканях и органах.



- Трансаминирование — один из начальных этапов **катаболизма аминокислот**. Образующиеся α-кетокислоты могут затем окисляться в цикле трикарбоновых кислот, а некоторые — использоваться для синтеза глюкозы или кетоновых тел.

Трансаминирование происходит во многих тканях, но наиболее активно — **в печени**.

2. В клинике широко используется определение активности некоторых аминотрансфераз в сыворотке крови, особенно часто — АСТ и АЛТ. Эти ферменты являются органоспецифическими, наиболее активны в клетках печени и сердца. В норме их активность в крови мала — 5—40 ЕД/л.

Существуют изоферменты АСТ: цитозольная форма (ц-АСТ) и митохондриальная (м-АСТ). В печени, миокарде и большинстве других органов м-АСТ представляет 80% массы фермента, но в сыворотке — лишь менее 12% как у здоровых людей, так и у больных. Повышение активности м-АСТ в сыворотке крови имеет место при острых поражениях печени, инфаркте миокарда, сопровождающихся некрозом тканей и разрушением клеточных мембран, при этом повышение активности м-АСТ отражает тяжесть болезни, поражение органа и прогноз.

Определение активности АЛТ и АСТ применяется для диагностики заболеваний миокарда и печени, в том числе при отравлении хлорорганическими соединениями, используемыми на химических производствах (CCl_4, хлороформ и др.). В этом случае активность ферментов в сыворотке крови увеличивается до 400 ед. и больше.

- Особенно важное значение для диагностики имеет увеличение активности АЛТ при **безжелтушных формах** вирусного гепатита.
- Для определения степени поражения печени и сердца определяют соотношение активностей АСТ—АЛТ в сыворотке крови — **коэффициент де Ритиса**, который в норме составляет 1,33±0,42.
- **При гепатитах** активность АЛТ увеличивается в 6—8 раз по сравнению с нормой, а АСТ — в 2—4 раза (рис. 9.4). Коэффициент де Ритиса уменьшается до ≈0,6. Однако при **циррозе печени** коэффициент де Ритиса приближается к 1,0 вследствие развивающегося некроза тканей и выхода в кровь митохондриальной фракции АСТ.

- **При инфаркте миокарда** активность АСТ увеличивается в 8—10 раз, а активность АЛТ — в 1,5—2 раза (рис. 9.5). Коэффициент де Ритиса значительно увеличивается. При **стенокардии, пороках сердца, инфаркте легкого** активность аминотрансфераз в крови не увеличивается, что дает возможность дифференциальной диагностики заболеваний сердца.

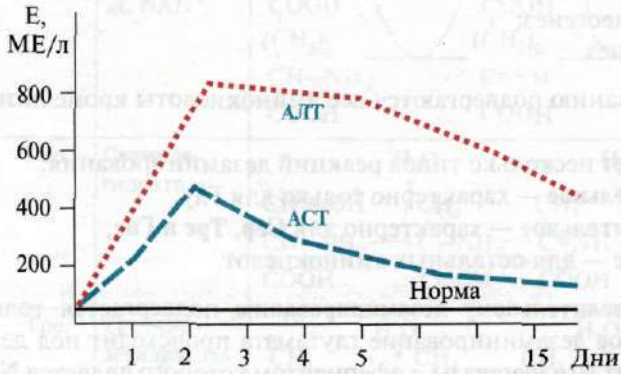


Рис. 9.4. Активность аминотрансфераз сыворотки крови при остром гепатите

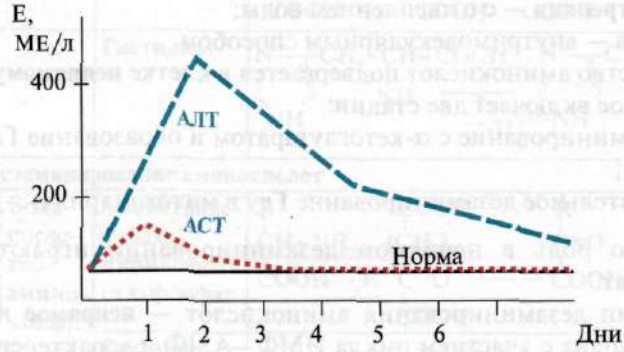


Рис. 9.5. Активность аминотрансфераз сыворотки крови при инфаркте миокарда

Особую важность имеет возможность дифференциальной диагностики тяжести заболеваний печени и сердца, а также анализ динамики течения заболевания.

3. Катаболизм аминокислот начинается с реакции **дезаминирования** — удаления α-аминогруппы, которая выделяется в виде аммиака и образования безазотистого остатка (α-кетокислоты). При дезаминировании в отличие от трансаминирования общее количество аминокислот уменьшается.

Продукт дезаминирования ***аммиак*** *— токсичное соединение, в клетках* подвергается обезвреживанию.

Безазотистый остаток представляет собой α-кетокислоту, которая включается:

- в реакции окисления до CO_2 и H_2O;
- в реакции трансаминирования для синтеза заменимых аминокислот;
- в анаплеротические реакции для восполнения убыли метаболитов ОПК или для синтеза других соединений;
- в глюконеогенез;
- в кетогенез.

Дезаминированию подвергаются все аминокислоты кроме **лизина** и **пролина** (табл. 9.3).

Существует несколько типов реакций дезаминирования:

- **окислительное** — характерно только для **Глу**;
- **неокислительное** — характерно для **Сер, Тре и Гис**;
- **непрямое** — для остальных аминокислот.

Прямому **окислительному дезаминированию** подвергается только **глутамат**. Окислительное дезаминирование глутамата происходит под действием фермента **глутаматдегидрогеназы,** коферментом которого является NAD^+. Реакция идет в митохондриях многих тканей, наиболее активно — в печени.

В реакцию неокислительного дезаминирования вступают:

- **серин и треонин** — с отщеплением воды;
- **гистидин** — внутримолекулярным способом.

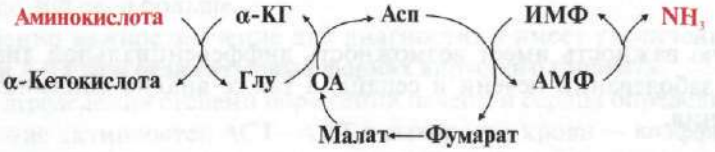
Большинство аминокислот подвергается в клетке **непрямому дезаминированию**, которое включает две стадии:

А. Трансаминирование с α-кетоглутаратом и образование Глу в цитозоле клетки;

Б. Окислительное дезаминирование Глу в митохондриях.

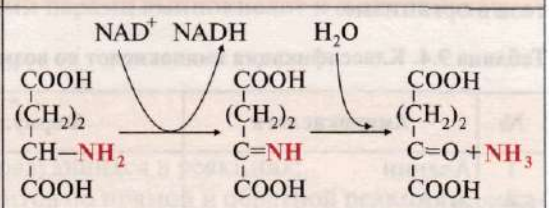
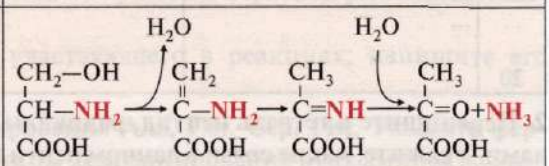
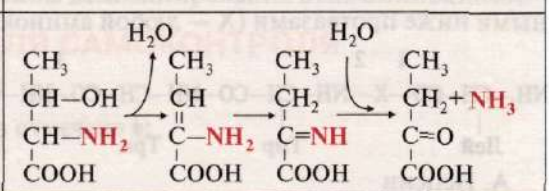
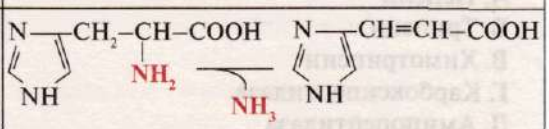
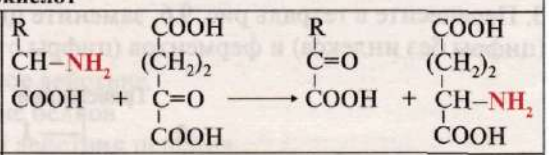
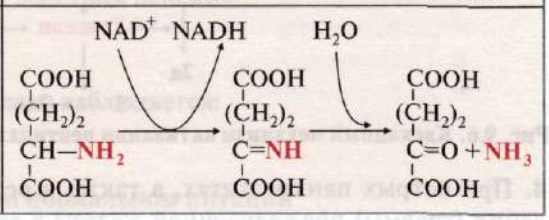
Центральную роль в непрямом дезаминировании играют **глутамат** и **α-кетоглутарат**.

Другой тип дезаминирования аминокислот — **непрямое неокислительное** — происходит с участием цикла ИМФ—АМФ и характерен для мышечной ткани и мозга, в которых глутаматдегидрогеназа малоактивна:



Аминогруппа аминокислот с помощью двух последовательных реакций трансаминирования переносится на ИМФ с образованием АМФ, который гидролитически дезаминируется с выделением аммиака.

Таблица 9.3. Реакции дезаминирования аминокислот

Виды реакций	Аминокислоты	Ферменты, коферменты	Реакции
1. Окислительное дезаминирование	Глу	**Глутаматдегидрогеназа, NAD^+**	
2. Неокислительное дезаминирование	Сер	**Сериндегидратаза**	
	Тре	**Треониндегидратаза**	
	Гис	**Гистидаза**	
3. Непрямое дезаминирование аминокислот			
А. Трансаминирование аминокислоты с α-кетоглутаратом и образование глутамата	Большинство аминокислот	**Аминотрансфераза**, пиридоксальфосфат	
Б. Окислительное дезаминирование Глу		**Глутаматдегидрогеназа**, NAD^+	

Катаболизм аминокислот и, соответственно, реакции дезаминирования ускоряются при:

- **голодании** в результате ускорения распада белков тканей;
- поступлении с пищей **больших количеств белка**;
- **сахарном диабете** и других длительно протекающих тяжелых заболеваниях, также сопровождающихся распадом тканевых белков.

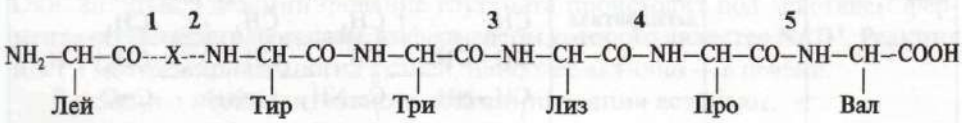
ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Заполните табл. 9.4, распределив аминокислоты по возможности их синтеза в организме.

Таблица 9.4. Классификация аминокислот по возможности синтеза в организме

№	Аминокислота	Формула	Группа по возможности синтеза в организме
1	Аланин		Заменимая
2	...		
...	...		
...			
20			

2. Перепишите в тетрадь пептид, радикалы аминокислот напишите формулами. Укажите, какие связи в данном пептиде будут расщепляться приведенными ниже протеазами (X — любой аминокислотный остаток):



А. Пепсин
Б. Трипсин
В. Химотрипсин
Г. Карбоксипептидаза
Д. Аминопептидаза

3. Перенесите в тетрадь рис. 9.6, замените цифры на названия проферментов (цифры без индекса) и ферментов (цифры с индексом «а»):

Рис. 9.6. Каскадный механизм активации пептидаз панкреатического сока

4. При острых панкреатитах, а также в результате механического повреждения (травмы) поджелудочной железы в ее клетках происходит активация проферментов. Объясните, в чем заключается опасность преждевременной активации этих ферментов. Для ответа на вопрос:

а) напишите, какие ферменты могут активироваться в этих случаях;
б) объясните, как может повлиять на клетки железы преждевременная активация;
в) назовите лекарственные препараты, применение которых уменьшит разрушительное действие панкреатических пептидаз, укажите механизм их действия (см. модуль 2).

5. В составе белков, которые человек получал с пищей, содержался избыток глутамата и мало аланина. Однако аланин присутствовал в организме в нормальных количествах. Объясните это, записав формулами реакции трансаминирования между следующими парами аминокислот и α-кетокислот:

а) Глу + Пируват →
б) Глу + Оксалоацетат →
в) Асп + α-Кетоглутарат →

Укажите:

а) названия продуктов, образующихся в реакциях;
б) *полное название ферментов по прямой и обратной реакциям; локализацию их в клетке;*
в) название кофермента, участвующего в реакциях; напишите его формулу.

6. Напишите реакции дезаминирования Ала, Глу, Сер, Гис. Укажите ферменты и коферменты. Назовите типы дезаминирования этих аминокислот.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильный ответ.

Наибольшее содержание белка отмечено в:

А. Мясе
Б. Рыбе
В. Молоке
Г. Капусте
Д. Сое

2. Выберите правильные ответы.

Соляная кислота в желудке:

А. Денатурирует белки
Б. Оказывает бактерицидное действие
В. Обеспечивает всасывание белков
Г. Создает оптимум pH для действия пепсина
Д. Активирует липазу

3. Выберите правильные ответы.

Положительный азотистый баланс наблюдается:

А. При голодании
Б. В период роста ребенка
В. У взрослого человека при нормальном питании
Г. В период реабилитации после длительного заболевания
Д. При старении

4. Установите соответствие.

Аминокислота:

А. Гис
Б. Сер
В. Цис
Г. Мет
Д. Арг

Характеристика:

1. Заменимая
2. Условно заменимая
3. Незаменимая

5. Выберите правильные ответы.

Пищевая ценность белка зависит от:

А. Присутствия всех заменимых аминокислот
Б. Порядка чередования аминокислот
В. Наличия всех незаменимых аминокислот
Г. Возможности расщепления в желудочно-кишечном тракте
Д. Присутствия всех 20 аминокислот

6. Выполните «цепное» задание:

а) в расщеплении пептидной связи (—Гли—Ала—) участвует:

А. Химотрипсин
Б. Эластаза
В. Карбоксипептидаза А
Г. Трипсин

б) активатором данного фермента является:

А. Пепсин
Б. Трипсин
В. Энтеропептидаза
Г. Химотрипсин

в) этот фермент используют для лечения:

А. Гнойных ран
Б. Нарушения переваривания белков в желудке
В. Некоторых злокачественных образований
Г. Вирусного конъюнктивита

7. Установите соответствие.

Протеолитический фермент:

А. Дипептидаза
Б. Трипсин
В. Химотрипсин
Г. Эластаза
Д. Дипептидаза

Пептидная связь:

1. ...—Арг—Ала—...
2. ...—Тир—Про— ...
3. Глу—Мет

8. Выберите правильные ответы.

Аминотрансферазы:

А. Локализованы в цитозоле и митохондриях клеток
Б. Взаимодействуют с двумя субстратами
В. Используют АТФ как источник энергии
Г. Катализируют необратимую реакцию
Д. Используют пиридоксальфосфат в качестве кофермента

9. Выберите правильные ответы.

Для непрямого дезаминирования необходимы витамины:

А. B_1
Б. B_6
В. PP
Г. С
Д. Биотин

10. Установите соответствие.

Состояние:

А. Почечнокаменная болезнь
Б. Гепатит
В. Инфаркт миокарда
Г. Пневмония
Д. Норма

Коэффициент де Ритиса:

1. 6,0
2. 0,5
3. 1,3

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. Д
2. А, Б, Г
3. Б, Г
4. 1—Б, 2—В, 3—Г
5. В, Г
6. а) Б, б) Б, в) А
7. 1—Б, 2—В, 3—Д
8. А, Б, Д
9. Б, В
10. 1—В, 2—Б, 3—Д

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Азотистый баланс, азотистое равновесие
2. Полноценные белки пищи
3. Заменимые и незаменимые аминокислоты
4. Переваривание белков
5. Пептидгидролазы
6. Эндопептидазы и экзопептидазы
7. Проферменты
8. Показатели кислотности желудочного сока
9. Гастриты гипоацидные, гиперацидные и анацидные
10. Ахилия
11. Трансаминирование
12. Диагностическое значение аспартат- и аланин-аминотрансфераз (АСТ и АЛТ)
13. Коэффициент де Ритиса
14. Дезаминирование окислительное и неокислительное
15. Непрямое дезаминирование аминокислот

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ, ИЗУЧАЕМЫЕ В ДАННОЙ МОДУЛЬНОЙ ЕДИНИЦЕ

- **Кислотность желудочного сока в норме:**
  общая **40—60 ТЕ**
  связанная **20—30 ТЕ**
  свободная **HCl 20—40 ТЕ**
- **Активность γ-ГТ в сыворотке крови здоровых людей:**
  у мужчин — **30—50 МЕ/л**
  у женщин — **25—35 МЕ/л**
- **Активность АЛТ и АСТ в сыворотке крови здоровых людей: 5—40 МЕ/л**
- **Коэффициент де Ритиса: 1,33 ± 0,42**

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. В африканских странах дети получают пищу преимущественно растительного происхождения, содержащую белки в недостаточных количествах. При этом часто наблюдается малокровие, мышечные дистрофии, отставание в росте и развитии, светлый цвет кожи. Объясните появление этих симптомов, для чего:

а) объясните, какие по составу белки необходимы для полноценного белкового питания;

б) дайте определение понятию «азотистый баланс» и укажите, какой азотистый баланс наблюдается при белковом голодании;

в) перечислите биологически активные вещества, которые синтезируются из аминокислот в организме;

г) назовите, какие пути обмена аминокислот усиливаются и тормозятся при белковом голодании.

2. У больного развился острый панкреатит, при этом стенки протока поджелудочной железы воспалились и отекли, просвет протока уменьшился, наблюдаются застойные явления. Таким больным необходима срочная медицинская помощь. Объясните, чем опасно затруднение оттока сока поджелудочной железы. Для этого:

а) назовите ферменты, которые синтезируются в поджелудочной железе;

б) укажите пути их активации, назовите активаторы проферментов;

в) объясните, к каким последствиям приведет их активация в ткани поджелудочной железы.

3. В желудочном соке больного обнаружен высокий уровень лактата. Укажите, какие заболевания возможны в этом случае. Для ответа:

а) назовите процесс, продуктом которого является лактат, перечислите здоровые и патологические ткани, в которых этот процесс происходит наиболее активно;

б) перечислите компоненты и pH желудочного сока в норме;

в) перечислите функции соляной кислоты желудочного сока;

г) предположите, какие компоненты желудочного сока нужно определить дополнительно, чтобы уточнить диагноз.

4. У больного язвенной болезнью желудка провели операцию с экстирпацией (удалением) большей части желудка. Но послеоперационное обследование показало, что процесс переваривания белков у пациента существенно не изменился. Объясните полученные результаты обследования. Для этого:

а) назовите пептидазу, которая синтезируется в желудке, назовите механизм ее активации, перечислите активаторы;

б) напишите формулу пептида и укажите, какая связь расщепляется в желудке здорового человека;

—Цис—Мет—Арг—Гли—Ала—Фен—Вал—Сер—

в) перечислите панкреатические пептидазы и ферменты энтероцитов, назовите, под действием каких ферментов при переваривании данного фрагмента белка появятся пептиды, С-концевыми аминокислотами которых являются Арг и Фен, укажите их проферменты;

г) назовите, к какой группе пептидаз относятся данные ферменты.

5. При безжелтушных формах гепатита высокочувствительным тестом является повышение в крови активности фермента γ-глутамилтранспептидазы (γ-ГТ), которая возрастает в 10—15 раз по сравнению с нормой (10—60 МЕ/л). Объясните диагностическое значение этого фермента, для ответа:

а) назовите основное свойство ферментов, определение активности которых в крови больных используется для диагностики заболеваний;
б) назовите систему, в работе которой участвует γ-ГТ, объясните ее роль в организме;
в) приведите примеры других ферментов, определение активности которых можно использовать для диагностики патологии печени.

6. Восточная кухня предполагает использование больших количеств глутамата в качестве приправы. Объясните, почему при вегетарианском питании с употреблением растительной пищи, содержащей мало белков, но много крахмала и при использовании глутамата общее количество аминокислот (Ала, Асп и т.д.) не снижается. Для этого:
а) назовите, к какой группе аминокислот по возможности синтеза в организме относятся Глу, Ала, Асп;
б) назовите, какая реакция может использоваться для перераспределения азота аминокислот в организме;
в) напишите реакции, с помощью которых можно получить Ала, Асп, назовите ферменты, катализирующие реакции, коферменты.

7. Здоровых крыс длительное время содержали на искусственной белковой диете, исключающей аминокислоты лейцин, валин и фенилаланин. Как изменится у этих животных азотистый баланс? Ответ поясните. Для этого:
а) дайте определение азотистого баланса;
б) назовите, к какой группе аминокислот по возможности синтеза в организме относятся Лей, Вал и Фен.

8. У пациента с подозрением на инфаркт миокарда определяли активность аланин- (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в крови. Активность какой из аминотрансфераз увеличится в большей степени при такой патологии и почему? Назовите другие ферменты, активность которых определяют в крови для подтверждения указанной патологии. При ответе на вопрос:
а) напишите реакции, которые катализируют АЛТ и АСТ;
б) объясните значение этих реакций в метаболизме аминокислот;
в) объясните принципы энзимодиагностики.

Модульная единица 2
ИСТОЧНИКИ АММИАКА В ОРГАНИЗМЕ, ПРИЧИНЫ ЕГО ТОКСИЧНОСТИ И СПОСОБЫ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ. ГИПЕРАММОНИЕМИЯ. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕЗАЗОТИСТЫХ ОСТАТКОВ АМИНОКИСЛОТ

Цели изучения

Уметь:

1. Объяснять причины токсичности аммиака и механизмы его обезвреживания в организме.
2. Использовать эти знания для понимания причин возникновения гипераммониемии разных типов и ее клинических проявлений.
3. Интерпретировать результаты определения концентрации мочевины в биологических жидкостях для диагностики заболеваний.
4. Объяснять роль аминокислот в обеспечении организма энергоносителями в условиях голодания.

Знать:

1. Источники аммиака и реакции его обезвреживания в организме.
2. Реакции процесса биосинтеза мочевины (орнитиновый цикл).
3. Причины и последствия нарушения синтеза и выведения мочевины.
4. Пути использования безазотистых остатков аминокислот для синтеза глюкозы и кетоновых тел.

ТЕМА 9.4. ОБМЕН АММИАКА: ИСТОЧНИКИ, ПРЕВРАЩЕНИЕ В ТКАНЯХ

1. Основным источником аммиака является **катаболизм аминокислот** в тканях. Небольшая часть аммиака образуется в клетках при распаде азотсодержащих соединений (биогенных аминов, нуклеотидов и др.) (рис. 9.7), а также при **гниении белков в кишечнике** в результате деятельности микрофлоры, откуда он частично всасывается и поступает в воротную вену. Концентрация аммиака в крови воротной вены существенно выше, чем в общем кровотоке.

Катаболизм аминокислот и образование аммиака происходит во всех тканях организма. Однако концентрация аммиака в крови очень мала, так как он быстро связывается в клетках с образованием нетоксичных продуктов. **Содержание аммиака в крови** в норме составляет всего **0,4—0,7 мг/л (25—40 мкмоль/л)**.

Из организма аммиак выводится почками в виде конечных продуктов азотистого обмена:

- **мочевины** — синтезируется в печени;
- **аммонийных солей** — образуются в почках.

Рис. 9.7. Источники аммиака и пути его превращения в разных тканях

2. В разных тканях существует несколько способов связывания и выведения аммиака (рис. 9.8).

Основной реакцией обезвреживания аммиака почти **во всех тканях** является **синтез глутамина** под действием **глутаминсинтетазы:**

$$\text{Глутамат} + NH_3 + \text{АТФ} \xrightarrow{\text{Глутаминсинтетаза}} \text{Глутамин} + \text{АДФ} + H_3PO_4$$

Глутаминсинтетаза обладает высоким сродством к аммиаку и благодаря этой реакции в крови и тканях поддерживается низкая концентрация NH_3.

Глутамин можно считать **транспортной формой аммиака**, он является нейтральной аминокислотой и способен легко проникать через клеточные мембраны путем облегченной диффузии (в отличие от глутамата, требующего механизмов активного транспорта). Глутамин поступает в кровь из многих органов, в наибольшем количестве — из **мышц и мозга** (см. рис. 9.8).

3. Из тканей глутамин транспортируется в почки и кишечник. **В клетках кишечника** под действием фермента **глутаминазы** происходит отщепление амидной группы в виде NH_3, а образовавшийся глутамат с помощью **АЛТ** превращается в аланин.

$$\text{Глутамин} + H_2O \xrightarrow{\text{Глутаминаза}} \text{Глутамат} + NH_3$$

$$\text{Глутамат} + \text{Пируват} \xrightarrow{\text{АЛТ}} \alpha\text{-Кетоглутарат} + \text{Аланин}$$

Таким образом, в энтероцитах амидная группа глутамина превращается в аммиак, а аминогруппа глутамина — включается в состав аланина.

4. В почках глутамин также подвергается действию фермента **глутаминазы** и расщепляется на глутамат, который реабсорбируется и возвращается в клетки тканей, и аммиак (см. рис. 9.8, В).

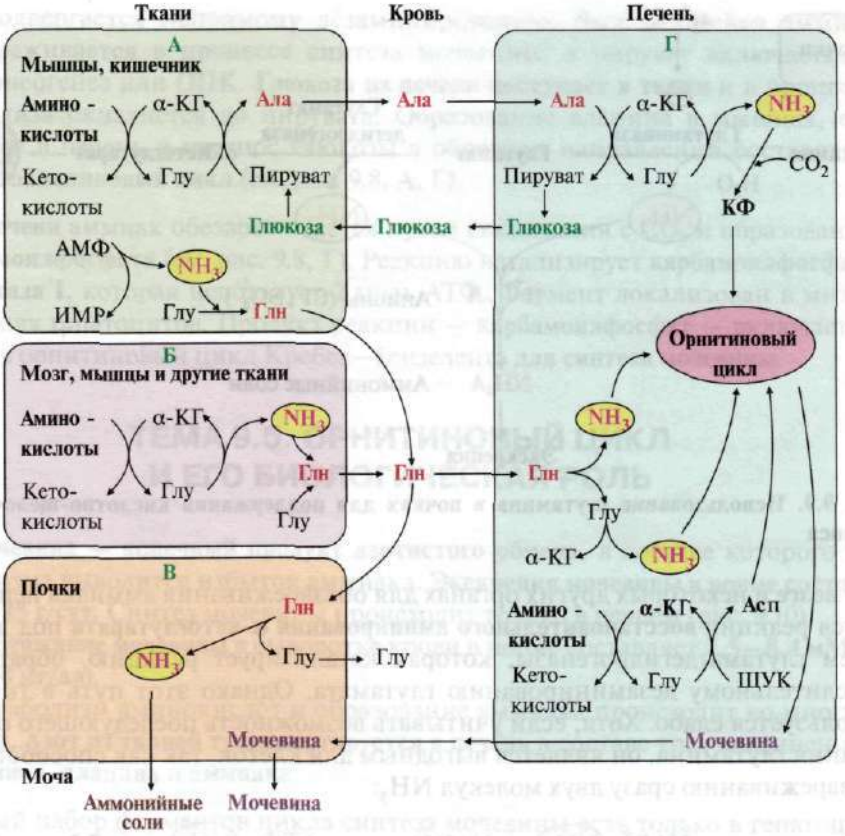


***Рис. 9.8.* Пути обмена азота аминокислот и аммиака:**

А — выведение азота из мышц и кишечника в составе аланина и глутамина; **Б** — выведение азота из мозга и мышц в виде глутамина; **В** — экскреция аммиака из почек в виде аммонийных солей; **Г** — включение азота аминокислот в мочевину в печени

Глутаминаза почек активируется при ацидозе; образовавшийся аммиак используется для нейтрализации кислых продуктов и образования аммонийных солей [в основном, NH_4Cl, $(NH_4)_2SO_4$], которые экскретируются с мочой (рис. 9.9). **Экскреция солей аммония** в норме составляет **≈0,5 г/сут**, при ацидозе выведение аммонийных солей может увеличиться до 10 г/сут.

Этот путь выведения аммиака:

- поддерживает кислотно-щелочной баланс в норме;
- защищает организм от потери с мочой **ионов Na^+ и K^+**, которые также могут использоваться для выведения избытка анионов.

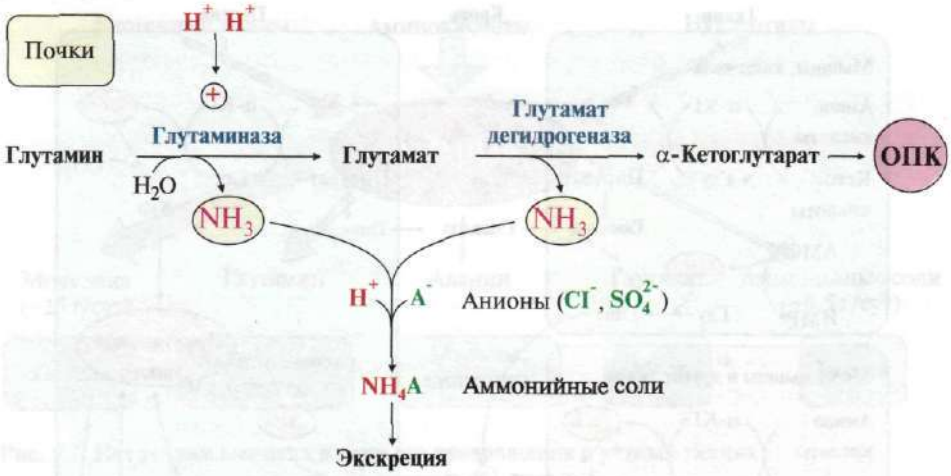
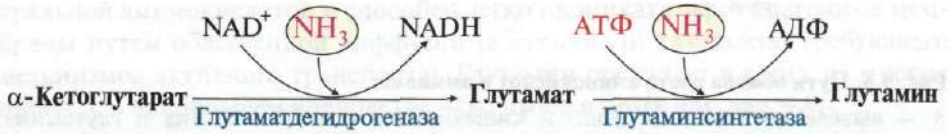
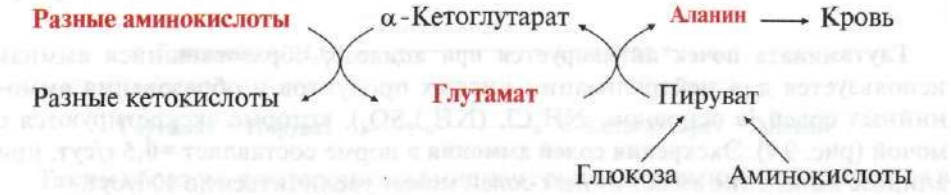


Рис. 9.9. Использование глутамина в почках для поддержания кислотно-щелочного баланса

5. В мозге и некоторых других органах для обезвреживания аммиака используется реакция **восстановительного аминирования α-кетоглутарата** под действием глутаматдегидрогеназы, которая катализирует реакцию, обратную окислительному дезаминированию глутамата. Однако этот путь в тканях используется слабо. Хотя, если учитывать возможность последующего образования глутамина, он является выгодным для клеток, так как способствует обезвреживанию сразу двух молекул NH_3:



6. Из мышц, клеток кишечника и некоторых других тканей избыток азота выводится в кровь в виде **аланина** (см. рис. 9.8, А, Г). Образование аланина в этих органах можно представить следующей схемой:



Аминогруппы разных аминокислот в ходе реакций трансаминирования переносятся на пируват, источником которого служат глюкоза и безазотистые остатки аминокислот. Особенно много аланина выделяют мышцы в силу их большой массы, а также потому, что работающие мышцы часть энергии получают за счет распада аминокислот. **Аланин поступает в печень,**

где подвергается непрямому дезаминированию. Выделившийся аммиак обезвреживается в процессе синтеза мочевины, а пируват включается в глюконеогенез или ОПК. **Глюкоза из печени поступает в ткани** и в процессе гликолиза окисляется до пирувата. Образование аланина в мышцах, его перенос в печень и перенос глюкозы в обратном направлении составляют **глюкозоаланиновый цикл** (см. рис. 9.8, А, Г).

7. В печени аммиак обезвреживается путем связывания с CO_2 и образования **карбамоилфосфата** (см. рис. 9.8, Г). Реакцию катализирует **карбамоилфосфатсинтетаза I**, которая использует 2 моль АТФ. Фермент локализован в митохондриях гепатоцитов. Продукт реакции — **карбамоилфосфат** — включается затем в орнитиновый цикл Кребса—Гензелейта **для синтеза мочевины**.

ТЕМА 9.5. ОРНИТИНОВЫЙ ЦИКЛ И ЕГО БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

1. Мочевина — конечный продукт азотистого обмена, в составе которого из организма выводится избыток аммиака. **Экскреция мочевины в норме составляет ≈25 г/сут.** Синтез мочевины происходит только в печени (рис. 9.10).

Содержание мочевины в сыворотке крови в норме составляет **2,5—8,4 мМ/л (15—50 мг/дл)**.

Катаболизм аминокислот и образование аммиака происходит во многих тканях. **Азот из тканей транспортируется в печень** в составе трех соединений: **глутамина**, **аланина** и **аммиака**.

Полный набор ферментов цикла синтеза мочевины есть только в гепатоцитах. Первые две реакции протекают в митохондриях, а последующие три — в цитозоле.

Молекула мочевины (карбамида, двойного амида угольной кислоты) содержит **два атома азота**:

- **первая аминогруппа** (см. рис. 9.10) включается в цикл в виде **аммиака**, образующегося в митохондриях гепатоцитов при дезаминировании аминокислот или поступающего из крови. Реакцию катализирует митохондриальная карбамоилфосфатсинтетаза I (цитоплазматическая карбамоилфосфатсинтетаза II участвует в синтезе пиримидиновых нуклеотидов);
- **вторая аминогруппа** (см. рис. 9.10) вводится в молекулу мочевины из **аспартата**.

2. Аммиак, используемый карбамоилфосфатсинтетазой I, **поставляется в печень**, главным образом, из кишечника **с кровью воротной вены**. Роль других источников, в том числе окислительного дезаминирования глутамата и гидролиза глутамина в печени, существенно меньше.

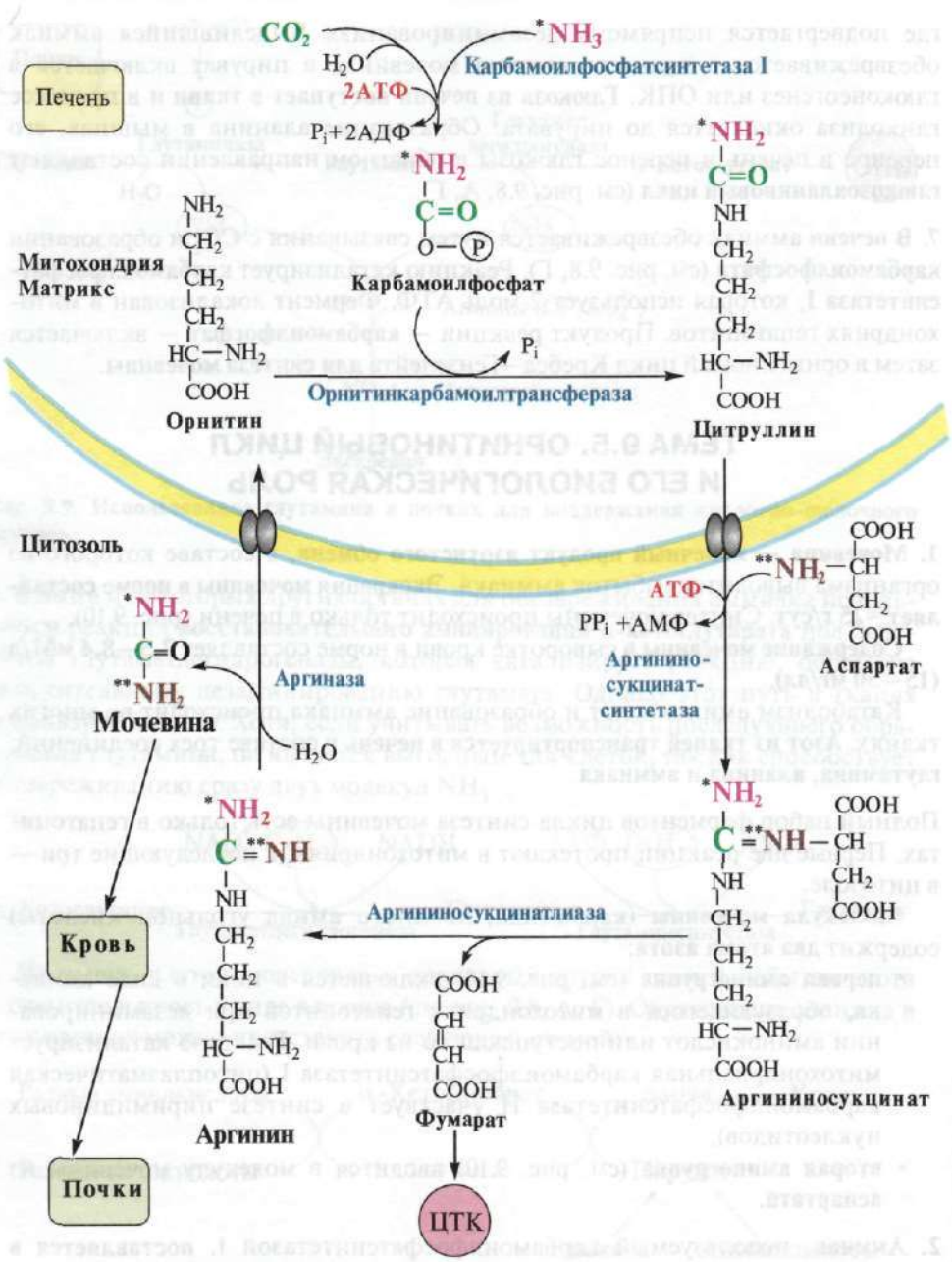


Рис. 9.10. Орнитиновый цикл Кребса—Гензелейта.

Ферменты орнитинового цикла локализованы в митохондриях и цитозоле гепатоцитов. В цикле происходит трансмембранный перенос цитруллина и орнитина. На схеме показаны пути включения двух атомов азота из разных аминокислот в молекулу мочевины:
— азот одной аминогруппы — в виде аммиака в матриксе митохондрии (*N);
— азот второй аминогруппы поставляется в составе аспартата в цитозоле (**N)

Аспартат, необходимый для синтеза аргининосукцината, **образуется** в печени:

- преимущественно с использованием **аминогруппы аланина**, который поступает **из мышц и клеток кишечника** (рис. 9.11);
- путем **трансаминирования** глутамата с оксалоацетатом.

Образующийся в орнитиновом цикле фумарат включается в реакции цитратного цикла и превращается в оксалоацетат, который путем трансаминирования снова образует аспартат (см. рис. 9.11). Таким образом, с орнитиновым циклом сопряжен **цикл регенерации аспартата из фумарата**. Пируват, образующийся в этом цикле, используется в ОПК или для глюконеогенеза.

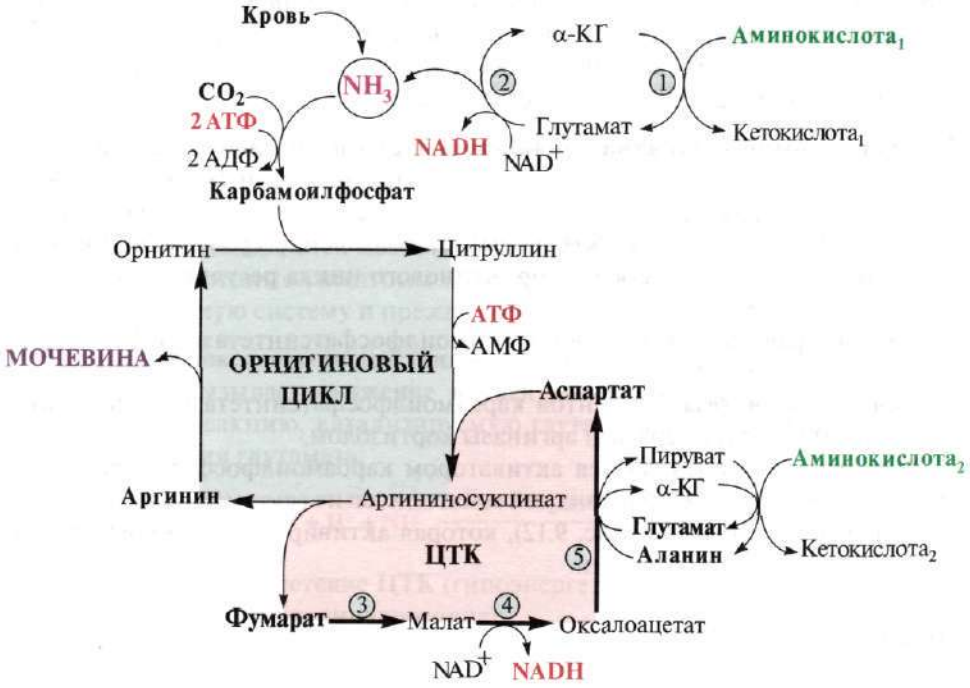


Рис. 9.11. Цикл регенерации аспартата.

Ферменты, катализирующие реакции: 1 — аминотрансфераза; 2 — глутаматдегидрогеназа; 3 — фумараза; 4 — малатдегидрогеназа; 5 — аминотрансфераза

3. В орнитиновом цикле **расходуется энергия** четырех макроэргических связей **трех молекул АТФ** на синтез одной молекулы мочевины. **Затраты энергии** происходят также **при трансмембранном переносе** компонентов цикла (цитруллина, орнитина, мочевины) (см. рис. 9.10). В почках перенос мочевины из крови в мочу происходит за счет градиента ионов натрия, создаваемого K, Na-АТФазой, которая потребляет АТФ.

Процесс синтеза мочевины имеет возможность **компенсации энергозатрат** (см. рис. 9.11):

- при регенерации аспартата из фумарата на стадии дегидрирования малата образуется NADH, который может обеспечить синтез трех молекул АТФ;
- при окислительном дезаминировании глутамата в разных органах также образуется **NADH**, соответственно — еще три молекулы АТФ.

4. Орнитиновый цикл в печени выполняет **две функции**:

- **превращение азота аминокислот в мочевину**, которая экскретируется и помогает избежать накопления аммиака в организме;
- **синтез аргинина** и пополнение его фонда в организме.

Эффективность работы орнитинового цикла при нормальном питании человека и умеренных физических нагрузках составляет примерно 60% его мощности. Такой запас мощности необходим для предотвращения гипераммониемии при изменениях количества белка в пище.

5. Регуляторными реакциями являются синтез карбамоилфосфата, цитруллина и заключительная реакция, катализируемая аргиназой. Основным регуляторным фактором является содержание субстратов, прежде всего аммиака. Высокий уровень NH_3 вызывает повышение уровня образования мочевины. Кроме того, скорость орнитинового цикла регулируется с помощью двух механизмов:

- **аллостерическая активация** карбамоилфосфатсинтетазы I N-ацетилглутаматом (N-АГ);
- **индукция синтеза** ферментов карбамоилфосфатсинтетазы I, орнитинкарбамоилтрансферазы и аргиназы кортизолом.

N-ацетилглутамат является активатором карбамоилфосфатсинтетазы I. Образуется в матриксе митохондрий гепатоцитов из глутамата и ацетил-КоА специфической синтазой (рис. 9.12), которая активируется при повышении содержания аргинина в печени.

Рис. 9.12. Регуляция карбамоилфосфатсинтетазы I

Индукция синтеза ферментов орнитинового цикла происходит в ответ на повышение скорости распада белков при голодании, длительной физической работе и при высокобелковой диете. В этих случаях углерод аминокислот превращается в глюкозу, а азот включается в молекулу мочевины. Индукция синтеза ферментов орнитинового цикла происходит параллельно с индукцией ферментов глюконеогенеза, АЛТ и глутаматдегидрогеназы. Заболевания, характеризующиеся интенсивным распадом белков тканей (сахарный диабет и др.), также сопровождаются активацией орнитинового цикла.

ТЕМА 9.6. ГИПЕРАММОНИЕМИЯ И ЕЕ ПРИЧИНЫ

1. Аммиак превращается в мочевину только в печени, поэтому при заболеваниях печени (гепатиты, цирроз и др.) или наследственных дефектах ферментов обезвреживания аммиака наблюдается **повышение содержания аммиака в крови (гипераммониемия)**, которое оказывает токсическое действие на организм.

Гипераммониемия сопровождается следующими симптомами:

- тошнота, рвота;
- головокружение, судороги;
- потеря сознания, отек мозга (в тяжелых случаях).

Все перечисленные симптомы обусловлены действием аммиака на центральную нервную систему и прежде всего на головной мозг.

2. Механизмы токсического действия аммиака связаны с тем, что:

- аммиак вызывает **снижение концентрации α-кетоглутарата**, так как сдвигает реакцию, катализируемую **глутаматдегидрогеназой**, в сторону образования глутамата:

$$\alpha\text{-Кетоглутарат} + NADH + H^+ + NH_3 \xrightarrow{\text{Глутаматдегидрогеназа}} \text{Глутамат} + NAD^+.$$

Это вызывает **угнетение ЦТК** (гипоэнергетическое состояние) и обмена аминокислот (**трансаминирования**);

- высокие концентрации аммиака вызывают **синтез глутамина** из глутамата в нервной ткани:

$$\text{Глутамат} + NH_3 + \text{АТФ} \xrightarrow{\text{Глутаминсинтетаза}} \text{Глутамат} + \text{АДФ} + H_3PO_4;$$

- **снижение концентрации глутамата** подавляет обмен аминокислот и синтез нейромедиаторов, в частности, **γ-аминомасляной кислоты (ГАМК)**, основного тормозного медиатора:

$$\text{Глутамат} \rightarrow \text{ГАМК} + CO_2.$$

Это нарушает проведение нервного импульса, вызывает судороги. Накопление глутамина в нервных клетках повышает осмотическое давление и, в больших концентрациях, может вызвать отек мозга;

- В крови и цитозоле аммиак превращается в **ион NH_4^+**:

$$NH_3 \xrightarrow{H^+} NH_4^+.$$

Накопление NH_4^+ нарушает трансмембранный перенос одновалентных катионов Na^+ и K^+, что также влияет на проведение нервных импульсов.

3. Известно пять наследственных заболеваний, обусловленных **дефектом пяти ферментов орнитинового цикла** (табл. 9.5). Нарушение орнитинового цикла наблюдается при гепатите и некоторых других вирусных заболеваниях; так, например, вирус гриппа подавляет синтез карбамоилфосфатсинтетазы I.

Все нарушения орнитинового цикла приводят к значительному **повышению в крови** концентрации:

- аммиака;
- глутамина;
- аланина.

Диагностика различных типов гипераммониемии производится путем определения:

- содержания аммиака в крови;
- метаболитов орнитинового цикла в крови и моче;
- активности фермента в биоптатах печени.

Основным диагностическим признаком служит повышение концентрации аммиака в крови. Однако в большинстве хронических случаев уровень аммиака может повышаться только после белковой нагрузки или в течение острых осложненных заболеваний.

Для снижения концентрации NH_3 в крови и облегчения состояния больных рекомендуется:

- малобелковая диета;
- введение метаболитов орнитинового цикла (аргинина, цитруллина, глутамата), которые стимулируют выведение аммиака в обход нарушенных реакций (рис. 9.13), например, в составе фенилацетилглутамина и гиппуровой кислоты.

Таблица 9.5. Наследственные нарушения орнитинового цикла и их проявления

Заболевание	Дефект фермента	Тип наследования	Основные клинические проявления	Метаболиты		Лечение
				Кровь	Моча	
Гиперам-мониемия тип I	Карбамоил-фосфат-синтетаза I	Аутосомно-рецессивный	В течение 24—48 часов после рождения судороги, потеря сознания, кома	Глн ↑ Ала↑	Оротат	Гемодиализ, малобелковая диета
Гиперам-мониемия тип II	Орнитин-карбамоил-трансфераза	Сцепленный с Х-хромосомой	Снижение толерантности к белкам, судорожные припадки	Глн ↑ Ала↑	Оротат	Малобелковая диета, фенилацетат, глутамат, цитруллин
Цитрул-линемия	Аргинино-сукцинат-синтетаза	Аутосомно-рецессивный	Тяжелая гипераммониемия у новорожденных. У взрослых — после белковой нагрузки	Цитрул-лин ↑	Цитруллин ↑	Малобелковая диета, аргинин, глутамат
Аргинино-сукцинат-урия	Аргинино-сукцинат-лиаза	Аутосомно-рецессивный	Гипераммониемия, судороги	Аргини-носукци-нат ↑	Аргининосукци-нат, Глн, Ала, Лиз	Малобелковая диета, аргинин
Гипераргини-нинемия	Аргиназа	Аутосомно-рецессивный	Гипераргининемия	Арг↑	Арг Лиз Орнитин	Малобелковая диета

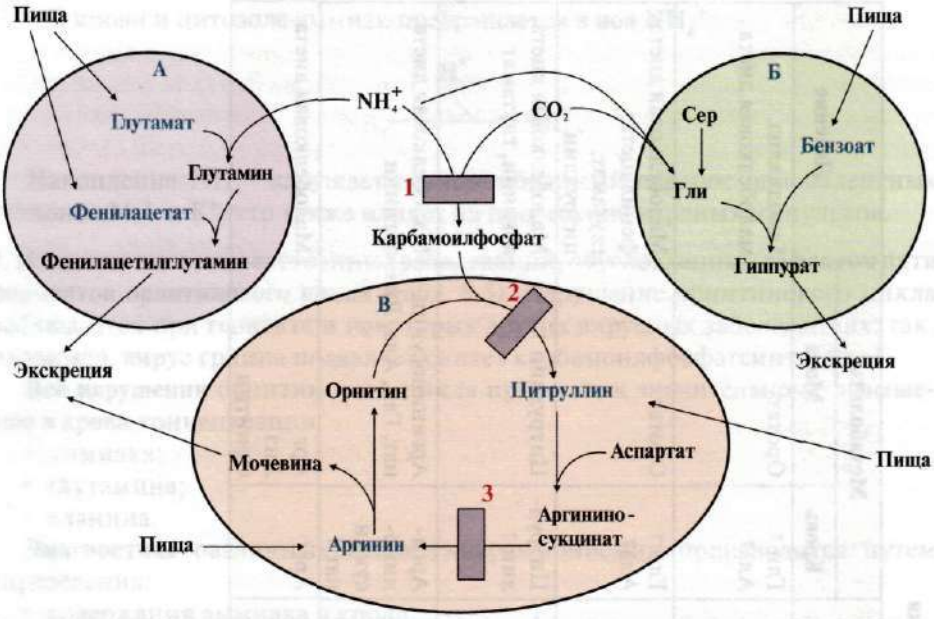


Рис. 9.13. Пути выведения аммиака при включении в диету глутамата, фенилацетата (А), бензоата (Б) и цитруллина (В) [1, 2 и 3 — ферментные блоки]:

А — поступление с пищей больших доз **глутамата** и **фенилацетата** при дефекте карбамоилфосфатсинтетазы I вызывает синтез глутамина и образование фенилацетилглутамина, который выводится с мочой; Б — введение в рацион бензоата приводит к образованию из глицина гиппуровой кислоты, в составе которой экскретируется азот; В — при дефекте орнитинкарбамоилтрансферазы введение больших доз **цитруллина** стимулирует синтез мочевины из карбамоилфосфата и аспартата. При дефекте аргининосукцинатлиазы введение больших доз **аргинина** стимулирует регенерацию орнитина и выведение азота в составе цитруллина и аргининосукцината

ТЕМА 9.7. ПУТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БЕЗАЗОТИСТЫХ ОСТАТКОВ АМИНОКИСЛОТ

1. Катаболизм всех аминокислот сводится к образованию шести соединений, являющихся метаболитами ОПК (рис. 9.14):

- пируват,
- ацетил-КоА,
- α-кетоглутарат,
- сукцинил-КоА,
- фумарат,
- оксалоацетат.

Аминокислоты, которые в ходе катаболизма превращаются в **пируват** или другие промежуточные продукты ЦТК (**α-КГ, сукцинил-КоА, фумарат**), в итоге превращаются в **оксалоацетат** и используются в процессе **глюконеогенеза**. Эти аминокислоты образуют группу **гликогенных аминокислот**.

Образование глюкозы из аминокислот стимулирует гормон кортизол, который индуцирует в печени синтез ферментов глюконеогенеза, орнитинового цикла и АЛТ.

Некоторые аминокислоты в процессе катаболизма превращаются в **ацетоацетат или ацетил-КоА** и могут быть источником кетоновых тел — **кетогенные аминокислоты: Лиз, Лей**.

Катаболизм ряда аминокислот приводит к образованию соединений, которые могут использоваться для синтеза глюкозы, и кетоновых тел, так как превращаются сразу в два продукта — один из метаболитов ОПК и ацетил-КоА (**Иле**) или ацетоацетат (**Три, Фен, Тир**). Такие аминокислоты называют **смешанными** или **глико-кетогенными** (см. рис. 9.14).

2. Полное окисление безазотистых остатков аминокислот до углекислого газа и воды реального энергетического значения не имеет. **Основной путь их использования** — включение в **глюконеогенез**. Этот процесс усиливается при голодании и сахарном диабете.

Безазотистые остатки аминокислот используются для **восполнения количества метаболитов ОПК**, которое затрачивается на синтез биологически

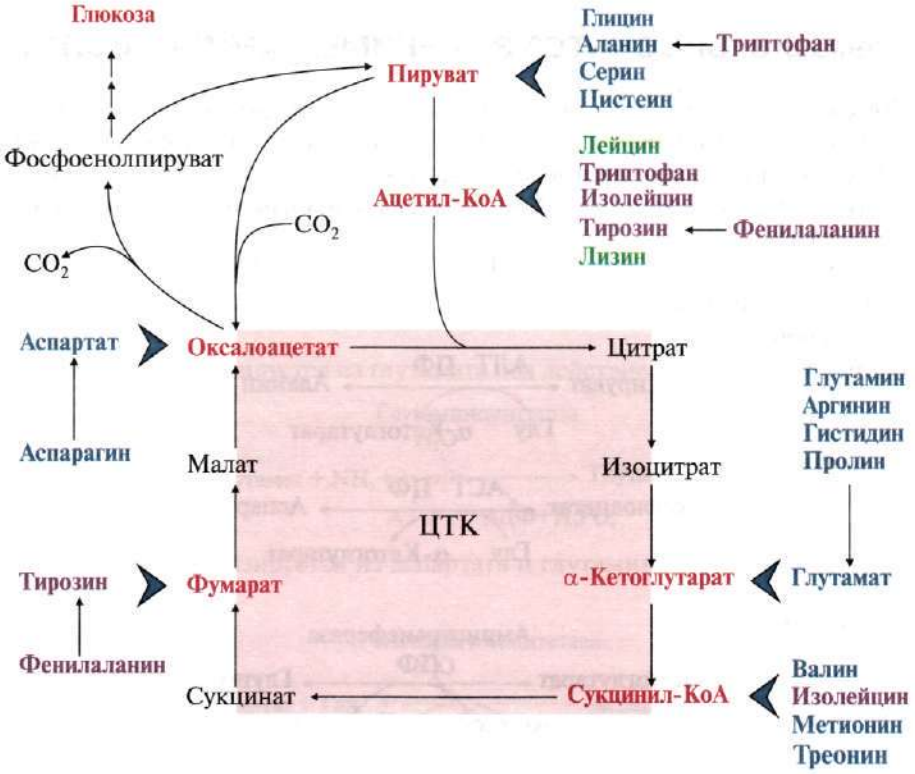


Рис. 9.14. Пути использования безазотистого остатка аминокислот

активных веществ. Такие **реакции называют анаплеротическими**. Можно выделить пять анаплеротических реакций:

- **Аминокислоты** → **Пируват** $\xrightarrow{CO_2}$ **Оксалоацетат**

Фермент **пируваткарбоксилаза** (кофермент — биотин) обнаружен в **печени и мышцах.**

- **Глутамат** → **α-Кетоглутарат**

Превращение происходит **во многих тканях** под действием **глутаматдегидрогеназы, или аминотрансфераз.**

- **Валин**
  Изолейцин → **Пропионил-КоА** → **Сукцинил—КоА**

Реакции происходят во всех тканях, где отсутствует пируваткарбоксилаза.

- **Аминокислоты** → **Фумарат**
- **Аминокислоты** → **Оксалоацетат**

Последние две реакции происходят в печени.

Первые две реакции являются основными анаплеротическими реакциями.

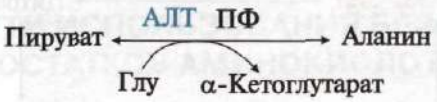
Тема 9.8. БИОСИНТЕЗ ЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ

1. Углеродный скелет восьми заменимых аминокислот (**Ала, Асп, Асн, Сер, Гли, Про, Глу, Гли**) и **цистеина** может синтезироваться из глюкозы (рис. 9.15).

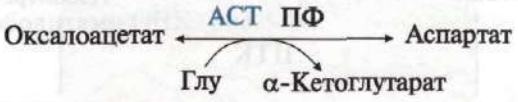
α-Аминогруппа вводится в соответствующие α-кетокислоты с помощью реакции трансаминирования. **Универсальным донором α-аминогруппы является глутамат.**

Непосредственно путем трансаминирования метаболитов ОПК с глутаматом синтезируются:

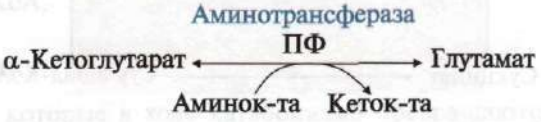
- **Аланин:**



- **Аспартат:**



- **Глутамат:**



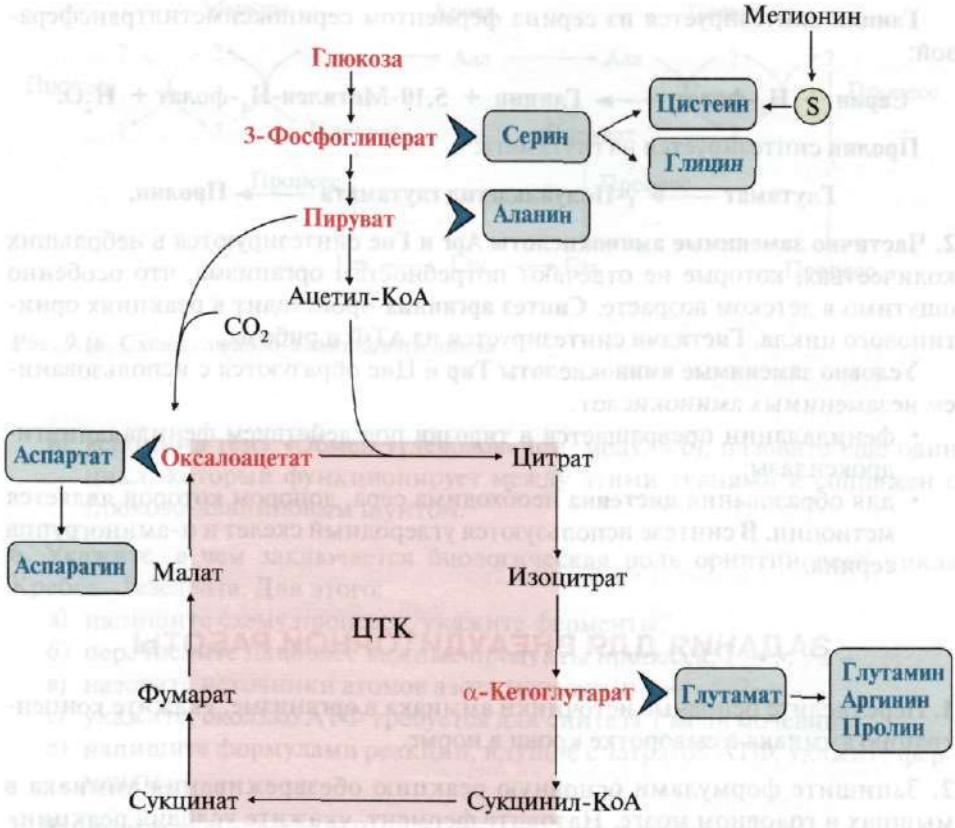
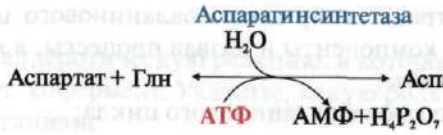


Рис. 9.15. Пути биосинтеза заменимых аминокислот

- **Глутамин** синтезируется из глутамата под действием глутаминсинтетазы:

- **Аспарагин** синтезируется из аспартата и глутамина под действием аспарагинсинтетазы:



Серин образуется из 3-фосфоглицерата — промежуточного продукта гликолиза.

Глицин синтезируется из серина ферментом сериноксиметилтрансферазой:

Серин + H_4-фолат ⟶ Глицин + 5,10-Метилен-H_4-фолат + H_2O.

Пролин синтезируется из глутамата:

Глутамат ⟶ γ-Полуальдегид глутамата ⟶ Пролин.

2. Частично заменимые аминокислоты Арг и Гис синтезируются в небольших количествах, которые не отвечают потребностям организма, что особенно ощутимо в детском возрасте. **Синтез аргинина** происходит в реакциях орнитинового цикла. **Гистидин** синтезируется из АТФ и рибозы.

Условно заменимые аминокислоты Тир и Цис образуются с использованием незаменимых аминокислот:

- фенилаланин превращается в **тирозин** под действием фенилаланингидроксилазы;
- для образования **цистеина** необходима сера, донором которой является метионин. В синтезе используются углеродный скелет и α-аминогруппа серина.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Перечислите основные источники аммиака в организме, укажите концентрацию аммиака в сыворотке крови в норме.

2. Запишите формулами основную реакцию обезвреживания аммиака в мышцах и головном мозге. Назовите фермент, укажите условия реакции.

3. Часть глутамина кровью транспортируется в почки, где под действием глутаминазы распадается на глутаминовую кислоту и аммиак. Объясните значение этой реакции для организма, для этого:

а) запишите реакцию, катализируемую глутаминазой, назовите ее активатор;

б) перечислите, в виде каких солей выводится аммиак почками;

в) укажите, какое количество солей аммония выводится почками в норме и как изменится их содержание в моче при ацидозе.

4. Напишите формулами реакцию обезвреживания аммиака, характерную только для печени. Укажите фермент, условия реакции. Какова дальнейшая судьба продукта реакции?

5. а) Перепишите в тетрадь схему глюкозоаланинового цикла (рис. 9.16), дополнив недостающие компоненты и назвав процессы, в которые вовлекаются указанные метаболиты;

б) укажите функцию глюкозоаланинового цикла;

Рис. 9.16. Схема глюкозо-аланинового цикла

в) вспомнив тему «Обмен углеводов» (см. модуль 6), назовите еще один цикл, который функционирует между этими тканями и сопряжен с глюкозо-аланиновым шунтом.

6. Укажите, в чем заключается биологическая роль орнитинового цикла Кребса—Гезелейта. Для этого:

а) напишите схему процесса, укажите ферменты;
б) перечислите наиболее важные продукты процесса: 1 — . . , 2 — . . .
в) назовите источники атомов азота мочевины: 1 — . . , 2 — . . .
г) укажите, сколько АТФ требуется для синтеза 1 моль мочевины;
д) напишите формулами реакции, идущие с затратой АТФ, укажите ферменты.

7. Напишите схему регенерации аспартата. Укажите возможные источники азота аспартата: 1 — . . , 2 — . . .

8. а) Назовите причины первичной и вторичной гипераммониемии;

б) перечислите механизмы токсического действия высоких концентраций аммиака на организм;
в) объясните действие больших доз аргинина при аргининосукцинатурии (наследственный дефект аргининосукцинатлиазы), напишите реакции, которые происходят при поступлении аргинина.

9. Напишите схему использования безазотистого остатка:

а) Сер;
б) Лей;
в) Вал;
г) Фен.

10. Напишите анаплеротическую реакцию, в которой используется пируват, назовите фермент, кофермент. Укажите, какую роль играют анаплеротические реакции в организме.

11. Заполните табл. 9.6.

Таблица 9.6. Классификация аминокислот по использованию безазотистого остатка

Гликогенные аминокислоты	Гликокетогенные аминокислоты	Кетогенные аминокислоты

12. Выберите правильные ответы.

а) Из метаболитов ОПК путем трансаминирования синтезируются аминокислоты:

А. Лизин
Б. Лейцин
В. Аланин
Г. Аспартат
Д. Глутамат

б) Напишите формулами реакции синтеза выбранных аминокислот из соответствующих предшественников, назовите ферменты, коферменты.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

Источником аммиака в организме являются:

А. Дезаминирование аминокислот
Б. Катаболизм нуклеотидов
В. Инактивация биогенных аминов
Г. Процессы гниения белков в кишечнике
Д. Распад мочевины

2. Выберите правильные ответы.

Конечные продукты азотистого обмена:

А. Глутамин
Б. Карнитин
В. Мочевина
Г. Аланин
Д. Аммонийные соли

3. Установите соответствие.

Фермент:

А. Карбамоилфосфатсинтетаза I
Б. Глутаминаза
В. Глутаминсинтетаза
Г. Глутаматдегидрогеназа
Д. АЛТ (ГПТ)

Действие фермента:

1. Дезаминирует аланин в печени
2. Обезвреживает аммиак в печени
3. Расщепляет глутамин в почках

4. Выполните «цепное» задание:

а) при длительном голодании гормон кортизол стимулирует в тканях распад белков. Образовавшиеся аминокислоты поступают в печень и включаются в процесс:

А. Дезаминирования
Б. Гликолиза
В. Синтеза гликогена
Г. Синтеза аминокислот
Д. Синтеза кетоновых тел

б) продуктом указанного процесса является:

А. Глюкоза
Б. Аммиак
В. Цитрат
Г. Лактат
Д. Ацетоацетат

в) это вещество в печени превращается в:

А. Глутамат
Б. Карбамоилфосфат
В. Аспартат
Г. Аланин
Д. Ацетил-КоА

г) полученное соединение включается в:

А. Гликолиз
Б. Глюконеогенез
В. Орнитиновый цикл
Г. Цитратный цикл
Д. Глюкозоаланиновый цикл

д) напишите схему выбранного процесса, укажите ферменты

е) в этом процессе синтезируется:

А. Глюкоза
Б. Пируват
В. Мочевина
Г. Глутамат
Д. Ацил-КоА

ж) образовавшееся вещество:

А. Депонируется в тканях
Б. Экскретируется почками
В. Выделяется с желчью в кишечник
Г. В клетках окисляется до CO_2 и H_2O
Д. Используется как энергетический субстрат

5. Выберите правильные ответы.

В митохондриях локализованы ферменты:

А. Карбамоилфосфатсинтетаза I
Б. Аргиназа
В. Орнитинкарбамоилтрансфераза
Г. Аргининосукцинатлиаза
Д. Аргининосукцинатсинтетаза

6. Выберите правильный ответ.

а) Реакцию с затратой АТФ катализирует:

А. Орнитинкарбамоилтрансфераза
Б. Карбамоилфосфатсинтетаза I
В. Глутаматдегидрогеназа
Г. Аргиназа
Д. Аргининосукцинатлиаза

б) напишите формулами реакцию, которую катализирует выбранный фермент.

7. Установите соответствие.

Дефект фермента:

А. Орнитинкарбамоилтрансфераза
Б. Аргининосукцинатлиаза
В. Карбамоилфосфатсинтетаза I
Г. Аргиназа
Д. Аргининосукцинатсинтетаза

Энзимопатия:

1. Гипераммониемия I
2. Цитруллинемия
3. Гипераргининемия

8. Выберите правильные ответы.

Нарушения орнитинового цикла повышают содержание в крови:

А. Аланина
Б. Орнитина
В. Глутамата
Г. Глутамина
Д. Аммиака

9. Выберите правильные ответы.

Повышенние содержания мочевины в сыворотке крови может быть обнаружено при:

А. Усиленном распаде тканевых белков (раковая кахексия)
Б. Значительном поступлении белков с пищей
В. Нарушении фильтрационной способности почек
Г. Поражениях паренхимы печени (гепатит)
Д. Дефекте ферментов орнитинового цикла

10. Выберите правильные ответы.

При гиперкортицизме (повышенной секреции кортизола корой надпочечников) наблюдается:

А. Уменьшение синтеза экскретируемых белков печени
Б. Индукция синтеза ферментов орнитинового цикла
В. Увеличение скорости синтеза глутаматдегидрогеназы
Г. Усиление распада тканевых белков
Д. Репрессия синтеза ферментов орнитинового цикла

11. Установите соответствие.

Безазотистый остаток:

А. Пируват
Б. α-Кетоглутарат
В. Сукцинил-КоА
Г. Оксалоацетат
Д. Фумарат

Аминокислота:

1. Глн
2. Сер
3. Асп

12. Установите соответствие.

Метаболит ОПК:

А. α-Кетоглутарат
Б. Сукцинил-КоА
В. Ацетил-КоА
Г. Фумарат
Д. Изоцитрат

1. Образуется только из гликогенных аминокислот
2. Образуется только из кетогенных аминокислот
3. Не образуется из аминокислот

13. Установите соответствие.

Предшественник:

А. Серин
Б. Пируват
В. 3-Фосфоглицерат
Г. Глутамат
Д. Аспартат

Аминокислота:

1. Ала
2. Про
3. Асн

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. А, Б, В, Г
2. В, Д
3. 1—Д, Г, 2—А, 3—Б
4. а) А, б) Б, в) Б, г) В, д) Схема — рис. 9.10, е) В, ж) Б
5. А, В
6. а) Б, б) рис. 9.6
7. 1—В, 2—Д, 3—Г
8. А, Г, Д
9. А, Б, В, Г, Д
10. А, Б, В, Г
11. 1—Б, 2—А, 3—Г
12. 1—А, 2—В, 3—Д
13. 1—Б, 2—Г, 3—Д

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Обезвреживание аммиака в тканях
2. Транспортные формы аммиака
3. Мочевина
4. Соли аммония
5. Гипераммониемия
6. Цитруллинемия
7. Аргининосукцинатурия
8. Гипераргининемия
9. Токсичность аммиака
10. Алкалоз
11. Гликогенные аминокислоты
12. Кетогенные аминокислоты

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ, ИЗУЧАЕМЫЕ В ДАННОЙ МОДУЛЬНОЙ ЕДИНИЦЕ

- Концентрация аммиака в сыворотке крови: **0,04—0,07 мг/дл (25—40 мкмоль/л)**
- Концентрация мочевины в сыворотке крови: **15—50 мг/дл (2,5—8,4 ммоль/л)**
- Суточное выведение мочевины: **≈25 г/сут**
- Суточное выведение аммонийных солей: **≈0,5 г/сут**

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Объясните, почему при кетонемии резко увеличивается выведение солей аммония (до 10 г/сут вместо 0,5 г/сут в норме). Для этого:

а) вспомните пути обезвреживания аммиака в разных тканях (мозг, мышцы, печень);

б) назовите, в виде какой аминокислоты происходит перенос аммиака из мышц в почки; напишите реакцию ее синтеза, укажите фермент;

в) напишите реакцию, которая происходит в почках при ацидозе; назовите фермент, который ее катализирует;

г) объясните, какое значение имеет эта реакция для поддержания кислотно-щелочного баланса;

д) напишите формулы солей, в виде которых выводится аммиак при кетонемии.

2. У больного гриппом отмечается головокружение, тошнота, судорожные припадки. Содержание аммиака в крови составляет 1,0 мг/дл. Учитывая действие вируса гриппа на печень, объясните механизмы развития симптомов патологии. Для этого:

а) напишите, чему равна концентрация аммиака в сыворотке крови в норме;

б) в тетради напишите схему орнитинового цикла, отметьте место ферментного блока при гриппе;

в) перечислите вещества, которые будут накапливаться в крови больного (*1* — ..., 2 — ..., 3 — ...);

г) перечислите механизмы токсического действия аммиака;

д) укажите, для каких клеток токсическое действие NH_3 наиболее опасно.

3. Объясните, почему у больного с тяжелой формой вирусного гепатита (поражение до 80% клеток паренхимы печени) концентрация мочевины в сыворотке крови снижена и составила 1,4 ммоль/л, в моче — 16 г/сут. Для ответа:

а) назовите, в составе какого соединения выводится из организма 90% азота, укажите место его синтеза;

б) напишите схему процесса, конечным продуктом которого является это соединениие;

в) назовите вещества, концентрация которых может увеличиться в крови таких больных;

г) объясните, нужно ли ограничивать потребление белков пищи при этом заболевании.

4. Больной аргининосукцинатурией в возрасте 22 лет вводили кетоаналоги валина, лейцина, изолейцина и фенилаланина на фоне малобелковой диеты в течение 2 недель, что вызвало снижение концентрации аммиака в плазме с 90 до 40 мкг/дл, а выведение аргининосукцината снизилось с 2 до 0,8 г в сутки. Объясните механизм лечебного действия кетоаналогов, написав соответствующие реакции и схемы.

5. Объясните, каковы причины повторяющейся рвоты, судорожных припадков с потерей сознания у 4-месячного ребенка, если в его крови обнаружена высокая концентрация цитруллина. Для этого:

а) напишите схему нарушенного процесса, на схеме покажите место ферментного блока;

б) напишите формулами реакцию, которая блокирована при данной патологии;

в) объясните механизмы развития перечисленных симптомов; укажите, как изменится суточное выделение мочевины при этой патологии;

г) предположите, как повлияет на состояние больного малобелковая диета.

6. На изолированных гепатоцитах исследовали синтез глюкозы из аминокислот. Для этого к культуре клеток добавляли различные аминокислоты и регистрировали скорость образования глюкозы. В контрольном опыте (без добавления аминокислот) скорость глюконеогенеза составляла 0,15 мкмоль глюкозы в минуту. При введении в инкубационную среду аланина, пролина и глутаминовой кислоты скорость увеличивалась до 0,17—0,18 мкмоль/мин, а при добавлении лизина или лейцина не изменялась. Объясните полученные результаты. Для этого:

а) напишите схему соответствующего процесса, используя в качестве субстрата аланин;

б) назовите, к какой группе относятся все перечисленные аминокислоты.

7. Вычислите, сколько моль аспарагиновой кислоты может образоваться из 6 моль глюкозы. Для ответа:

а) напишите схему распада глюкозы до пирувата;

б) напишите реакцию образования кетоаналога аспартата из пирувата, укажите фермент, кофермент;

в) напишите реакцию трансаминирования между глутаматом и этим кетоаналогом, укажите фермент, кофермент.

Модульная единица 3
ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ: СЕРИНА, ГЛИЦИНА, МЕТИОНИНА, ФЕНИЛАЛАНИНА, ТИРОЗИНА И ГИСТИДИНА. РОЛЬ ВИТАМИНОВ B_{12}, B_6 И ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ. ЗАБОЛЕВАНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С НАРУШЕНИЕМ ОБМЕНА ФЕНИЛАЛАНИНА И ТИРОЗИНА. СИНТЕЗ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ И ИНАКТИВАЦИЯ БИОГЕННЫХ АМИНОВ

Цели изучения

Уметь:

1. Использовать знания об обмене некоторых аминокислот (серина, глицина, метионина, фенилаланина, тирозина и гистидина) для понимания их специфических функций в организме здорового человека.
2. Объяснять причины возникновения наследственных заболеваний, связанных с нарушением обмена отдельных аминокислот (фенилкетонурия, алкаптонурия и др.).
3. Интерпретировать результаты определения креатинина в моче для оценки функционального состояния мышц и почек.
4. Объяснять значение биогенных аминов для нормального функционирования организма и молекулярные основы лечения заболеваний, связанных с изменением их содержания (болезнь Паркинсона и т.д.).

Знать:

1. Роль серина и глицина в образовании производных фолиевой кислоты, необходимых для синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, регенерации метионина.
2. Значение метионина как донора метильной группы для синтеза различных соединений, примеры реакций трансметилирования.
3. Особенности обмена фенилаланина, тирозина и гистидина в разных тканях.
4. Физиологические функции биогенных аминов, пути их образования и инактивации.

ТЕМА 9.9. ОБМЕН СЕРИНА И ГЛИЦИНА. РОЛЬ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ

Кроме путей обмена, характерных для большинства аминокислот, входящих в состав белков, почти для всех аминокислот существуют и специфические пути превращения. Рассмотрим обмен некоторых аминокислот, специфические пути превращения которых приводят к синтезу биологически важных продуктов и во многом определяют физиологическое состояние человека.

1. Серин — заменимая аминокислота, синтезируется из промежуточного

продукта гликолиза — 3-фосфоглицерата в последовательности реакций дегидрирования, трансаминирования и гидролиза под действием фосфатазы (рис. 9.17).

В организме серин используется для синтеза:

- фосфолипидов (фосфатидилсерины, сфингомиелины);
- аминокислот (глицина, цистеина).

Основной путь катаболизма серина — его дезаминирование с образованием пирувата (см. тему 9.3).

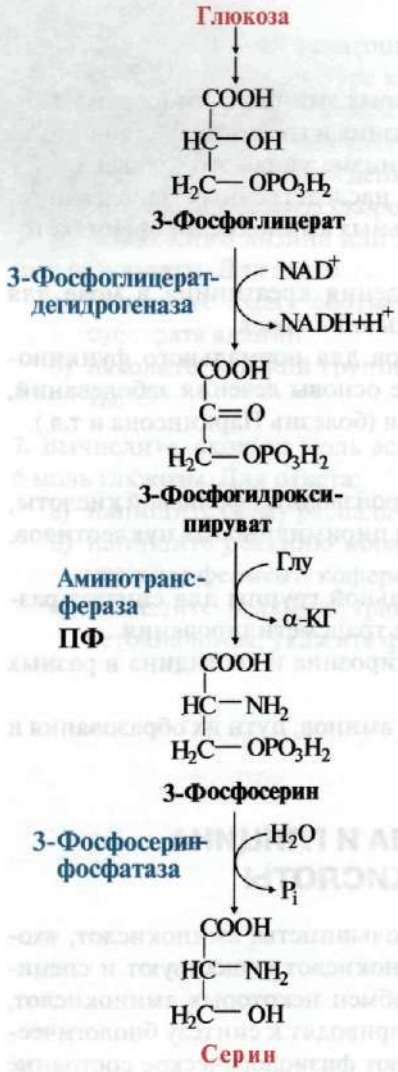


Рис. 9.17. Синтез серина из глюкозы

2. Глицин образуется из серина под действием серинокситилтрансферазы. **Коферментом** этого фермента является **тетрагидрофолиевая кислота (Н4-фолат)**, которая присоединяет β-углеродный атом серина, образуя метилен – Н4-фолат (рис. 9.18):

Глицин является предшественником:

- порфиринов (гема),
- пуриновых оснований,
- коферментов,
- глутатиона и др.

Катаболизм глицина происходит также с **участием H_4-фолата**, который связывает α-CH_2-группу глицина (см. рис. 9.18).

3. H_4-фолат образуется в печени из фолиевой кислоты (фолата) с участием ферментов фолатредуктазы и дигидрофолатредуктазы (рис. 9.19). Коферментом этих редуктаз является NADPH.

Метиленовая группа $-CH_2-$ в молекуле **метилен–H_4-фолата** может превращаться в другие одноуглеродные группы:

- **метильную** $-CH_3$
- **метенильную** $-CH=$
- **формильную** $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H$

H_4-фолат способен передавать эти группы на другие соединения и играет роль **промежуточного переносчика одноуглеродных групп.**

Одноуглеродные фрагменты используются для синтеза нуклеотидов и ряда соединений (см. рис. 9.18).

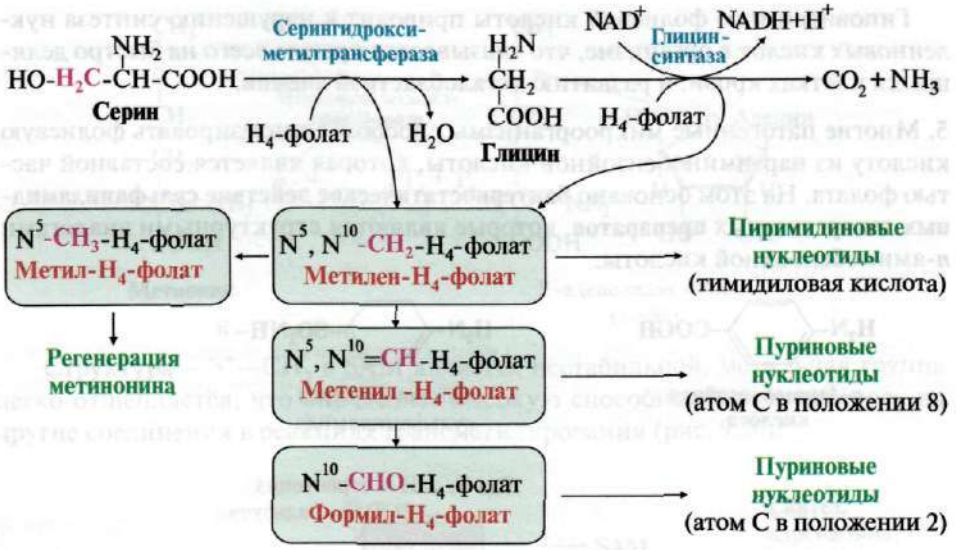


Рис. 9.18. Биологическая роль одноуглеродных групп

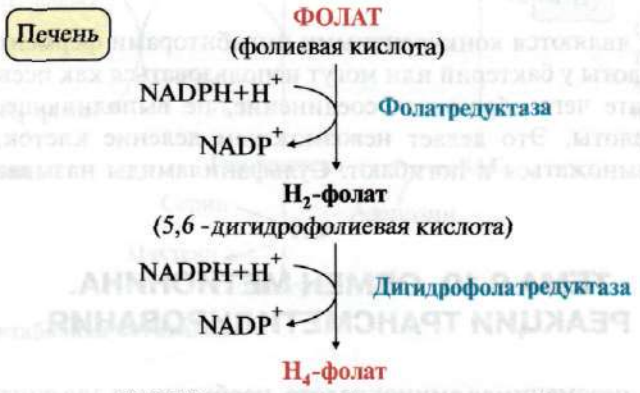


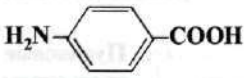
Рис. 9.19. Схема синтеза H_4-фолата в печени

4. Фолиевая кислота является витамином для человека и большинства млекопитающих (**витамин B_C** или **B_9**). Она широко распространена в пищевых продуктах и синтезируется бактериями кишечника. ***Гиповитаминоз*** у человека возникает достаточно редко. Причинами его могут послужить:

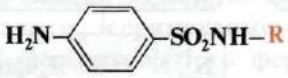
- неправильное питание — недостаточное потребление овощей, фруктов и мясных продуктов;
- нарушение всасывания фолиевой кислоты в кишечнике;
- гепатит, цирроз и другие поражения печени, вызывающие снижение активности фолатредуктазы.

Гиповитаминоз фолиевой кислоты приводит к нарушению синтеза нуклеиновых кислот в организме, что сказывается прежде всего на быстро делящихся клетках крови, и развитию **мегалобластной анемии.**

5. Многие патогенные микроорганизмы способны синтезировать фолиевую кислоту из парааминобензойной кислоты, которая является составной частью фолата. На этом основано **бактериостатическое действие сульфаниламидных лекарственных препаратов**, которые являются структурными аналогами *п*-аминобензойной кислоты:

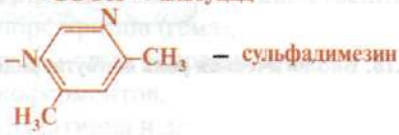


***п*-Аминобензойная кислота**



Общая формула сульфаниламида

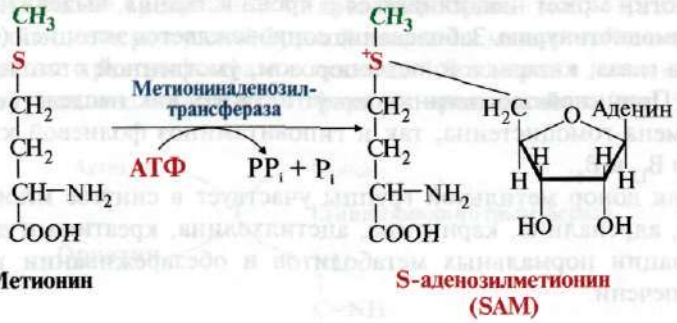
Где R: – H – стрептоцид
– COOH – альбуцид



Препараты являются конкурентными ингибиторами ферментов синтеза фолиевой кислоты у бактерий или могут использоваться как псевдосубстраты, в результате чего образуется соединение, не выполняющее функции фолиевой кислоты, Это делает невозможным деление клеток, бактерии перестают размножаться и погибают. Сульфаниламиды называют антивитаминами.

ТЕМА 9.10. ОБМЕН МЕТИОНИНА. РЕАКЦИИ ТРАНСМЕТИЛИРОВАНИЯ

1. Метионин — незаменимая аминокислота, необходимая для синтеза белков. Мет-тРНК^{мет} участвует в инициации процесса трансляции каждого белка. Как и многие другие аминокислоты, метионин подвергается транс- и дезаминированию. Особая роль метионина заключается в том, что метильная группа этой аминокислоты используется для синтеза целого ряда соединений в реакциях трансметилирования. Основным донором метильной группы является **S-аденозилметионин (SAM)** — активная форма метионина, который присутствует во всех типах клеток и синтезируется из метионина и АТФ под действием фермента **метионин-аденозилтрансферазы**:



Структура $-S^+-CH_3$ в SAM является нестабильной, метильная группа легко отщепляется, что определяет высокую способность ее к переносу на другие соединения в реакциях трансметилирования (рис. 9.20).

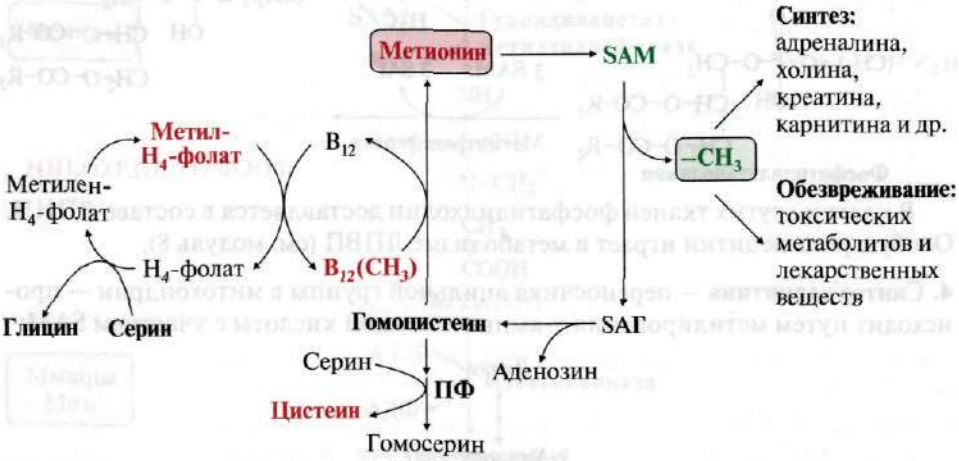


Рис. 9.20. Метаболизм метионина

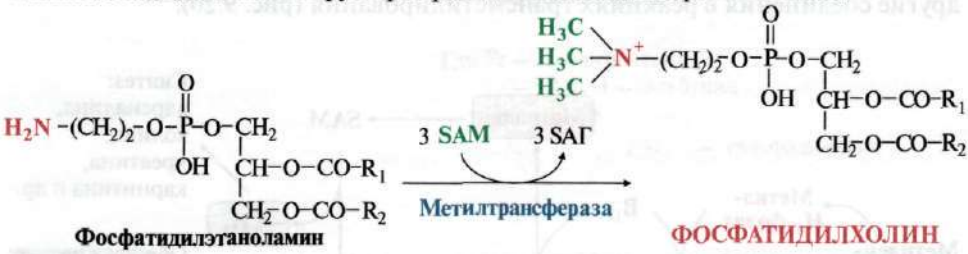
В реакциях трансметилирования SAM превращается в S-аденозилгомоцистеин (САГ), который гидролитически расщепляется с образованием аденозина и гомоцистеина. Последний может снова превращаться в метионин с участием метил-H_4-фолата и витамина B_{12}. **Регенерация метионина** тесно связана с обменом серина и глицина и взаимопревращениями производных H_4-фолата (см. рис. 9.20).

2. Метионин и серин необходимы для синтеза условно заменимой аминокислоты **цистеина**, причем в этом процессе метионин является донором атома серы. Цистеин образуется непосредственно из гомоцистеина в ходе двух реакций, которые происходят с участием пиридоксальфосфата (см. рис. 9.20). Генетический дефект этих ферментов приводит к нарушению использования гомоцистеина в организме и превращению его в **гомоцистин**.

Гомоцистин может накапливаться в крови и тканях, выделяться с мочой, вызывая **гомоцистинурию**. Заболевание сопровождается эктопией (смещением) хрусталика глаза, катарактой, остеопорозом, умственной отсталостью (≈50% больных). Причиной заболевания могут служить как наследственные нарушения обмена гомоцистеина, так и гиповитаминоз фолиевой кислоты или витаминов B_{12} и B_6.

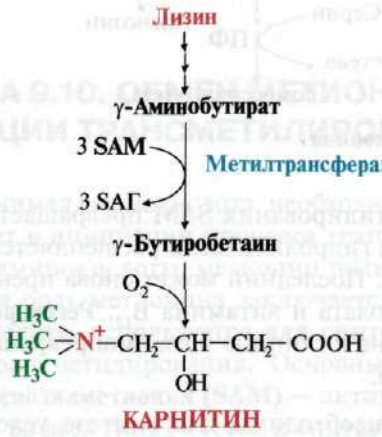
SAM как донор метильной группы участвует в синтезе многих веществ (лецитина, адреналина, карнитина, ацетилхолина, креатина и др.), а также в инактивации нормальных метаболитов и обезвреживании токсических веществ в печени.

3. Синтез фосфатидилхолина (лецитина) наиболее активно протекает в печени, которая использует лецитин на построение мембран и формирование липопротеинов. Реакцию катализирует фосфатидилэтаноламинтрансметилаза.



В клетки других тканей фосфатидилхолин доставляется в составе ЛПНП. Особую роль лецитин играет в метаболизме ЛПВП (см. модуль 8).

4. Синтез карнитина — переносчика ацильной группы в митохондрии — происходит путем метилирования γ-аминомасляной кислоты с участием SAM:



5. Синтез креатина происходит с использованием трех аминокислот: **аргинина, глицина** и **метионина**. Процесс начинается в почках, в реакцию вступают аргинин и глицин. Образующийся гуанидинацетат поступает затем в печень, где подвергается метилированию с участием SAM и превращается в креатин. Из печени креатин транспортируется в мышцы и головной мозг.

Креатин в клетках превращается в **креатинфосфат** — макроэргическое соединение, являющееся резервной формой энергии в мышечной и нервной тканях. Содержание креатинфосфата в покоящейся мышце в восемь раз выше, чем АТФ. Эту реакцию катализирует фермент **креатинкиназа** (рис. 9.21).

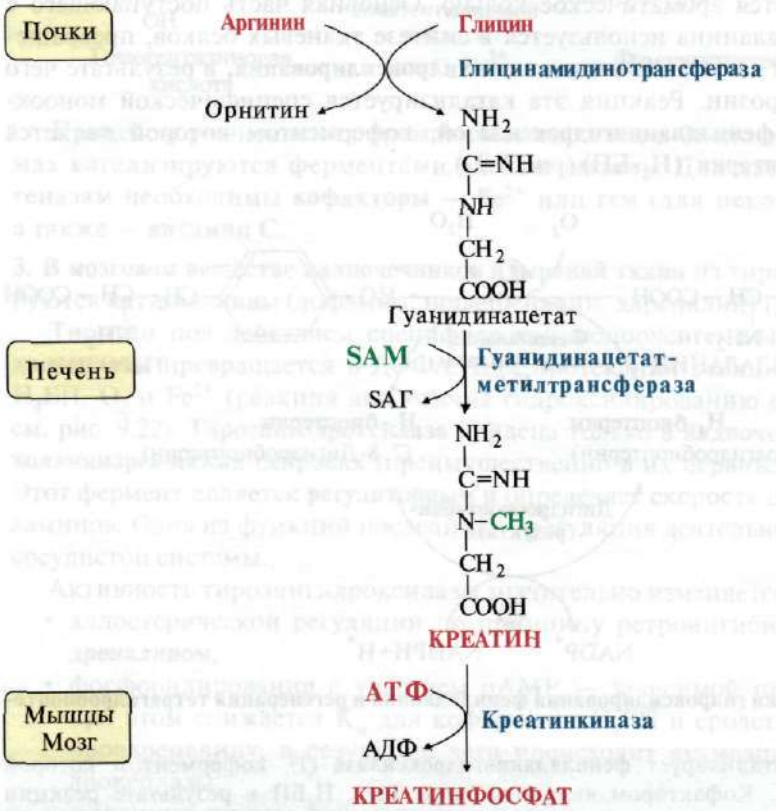


Рис. 9.21. Схема синтеза и использования креатина

- Креатинфосфат играет важную роль в обеспечении работающей мышцы энергией в начальный период физической работы.
- В работающей мышце концентрация АТФ некоторое время остается постоянной, а концентрация креатинфосфата быстро снижается. Часть образовавшегося креатина и креатинфосфата с постоянной скоростью превращается в креатинин, который выводится с мочой (норма — 1—2 г/сут, или 8,8—17,6 ммоль/л)
- **При уменьшении массы мышц** вследствие длительного отрицательного азотистого баланса, при состояниях, ведущих к атрофии мышц, **выделение креатинина снижается** (голодание, острые инфекции, сахарный диабет, гипертиреоз и т.д.). Определение содержания в крови креатина и креатинина используется для диагностики заболеваний, а также как показатель эффективности работы мышц в спортивной медицине.

ТЕМА 9.11. ОБМЕН ФЕНИЛАЛАНИНА, ТИРОЗИНА И ГИСТИДИНА В РАЗНЫХ ТКАНЯХ

1. Фенилаланин — незаменимая аминокислота, так как в клетках животных не синтезируется ароматическое кольцо. Основная часть поступающего с пищей фенилаланина используется в синтезе тканевых белков, превращение остальной части начинается с его **гидроксилирования**, в результате чего образуется тирозин. Реакция эта катализируется специфической монооксигеназой — **фенилаланингидроксилазой**, коферментом которой является **тетрагидробиоптерин (H_4-БП)** (рис. 9.22).

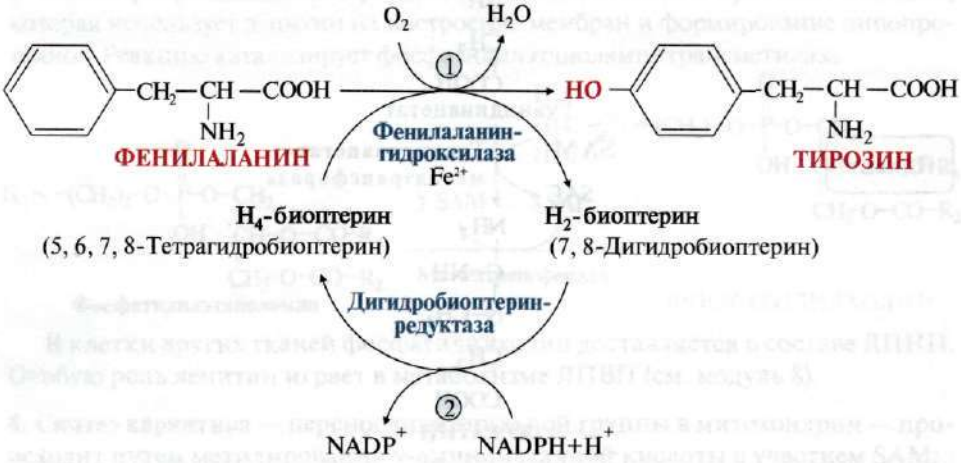


Рис. 9.22. Реакция гидроксилирования фенилаланина и регенерация тетрагидробиоптерина (H_4БП):

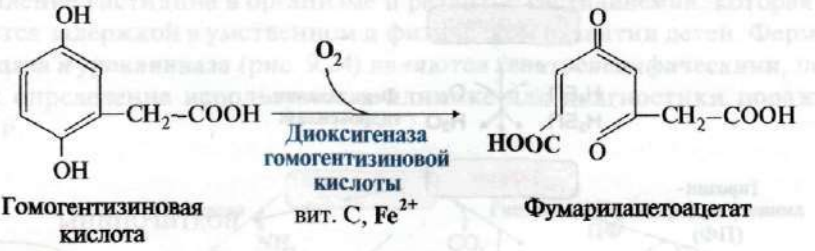
1. Реакцию катализирует **фенилаланингидроксилаза** (1), коферментом которой является H_4БП. Кофактором являются ионы Fe^{2+}. H_4БП в результате реакции окисляется в дигидробиоптерин (H_2БП).

2. Регенерация дигидробиоптерина (2) происходит при участии **дигидробиоптерин-редуктазы** с использованием NADPH.

2. Тирозин — условно заменимая аминокислота. Синтезируется только из фенилаланина.

Катаболизм Фен и Тир происходит **в печени**. В результате ряда реакций образуется фумарат и ацетоацетат (рис. 9.23, А). Фумарат используется для синтеза глюкозы (глюконеогенез) или окисляется до CO_2 и H_2O. Ацетоацетат — кетоновое тело, которое окисляется в тканях с выделением энергии. Таким образом, Фен и Тир относятся к смешанным (гликокетогенным) аминокислотам по использованию безазотистого остатка.

Превращение промежуточного продукта катаболизма Тир — гомогентизиновой кислоты — в фумарилацетоацетат сопровождается расщеплением ароматического кольца.



Процессы расщепления ароматических колец в биологических системах катализируются ферментами **диоксигеназами**. Для катализа диоксигеназам необходимы **кофакторы** — Fe^{2+} или **гем** (для некоторых — Cu^{+}), а также — **витамин С**.

3. *В мозговом веществе надпочечников и нервной ткани* из тирозина синтезируются **катехоламины** (дофамин, норадреналин, адреналин) (рис. 9.23, В).

Тирозин под действием специфической монооксигеназы — **тирозингидроксилазы** превращается в ДОФА. Для протекания реакции необходимы H_4БП, O_2 и Fe^{2+} (реакция аналогична гидроксилированию фенилаланина, см. рис. 9.22). **Тирозингидроксилаза** найдена только **в надпочечниках и катехоламинэргических нейронах** (преимущественно в их нервных окончаниях). Этот фермент является **регуляторным** и определяет скорость синтеза катехоламинов. Одна из функций последних — регуляция деятельности сердечно-сосудистой системы.

Активность тирозингидроксилазы значительно изменяется в результате:

- аллостерической регуляции по принципу ретроингибирования **норадреналином**;
- фосфорилирования с участием цАМР — зависимой протеинкиназы, при этом снижается $K_м$ для кофермента H_4БП и сродство фермента к норадреналину, в результате чего происходит активация тирозингидроксилазы;
- индукции синтеза фермента **кортизолом**.

Катехоламины выполняют очень важные функции в организме. **Дофамин** является медиатором среднего отдела мозга. **Норадреналин** — тормозный медиатор синаптической нервной системы и разных отделов головного мозга, но может выполнять функцию возбуждающего медиатора в гипоталамусе. **Адреналин** — гормон интенсивной физической работы, который синтезируется при стрессе и регулирует основной обмен, а также усиливает сокращение сердечной мышцы.

В щитовидной железе тирозин используется для синтеза гормонов **иодтиронинов** (тироксина и трииодтиронина) (рис. 9.23, Г). Подробно их функции и синтез рассматриваются в модуле 11.

В меланоцитах — пигментных клетках кожи, сетчатки глаз **тирозин** является предшественником **пигментов меланинов** (см. рис. 9.23, Б).

4. Частично заменимая аминокислота **гистидин** синтезируется из глутамата в сложном процессе, поскольку образование гетероциклического радикала в клетках человека и млекопитающих сопряжено с большими трудностями.

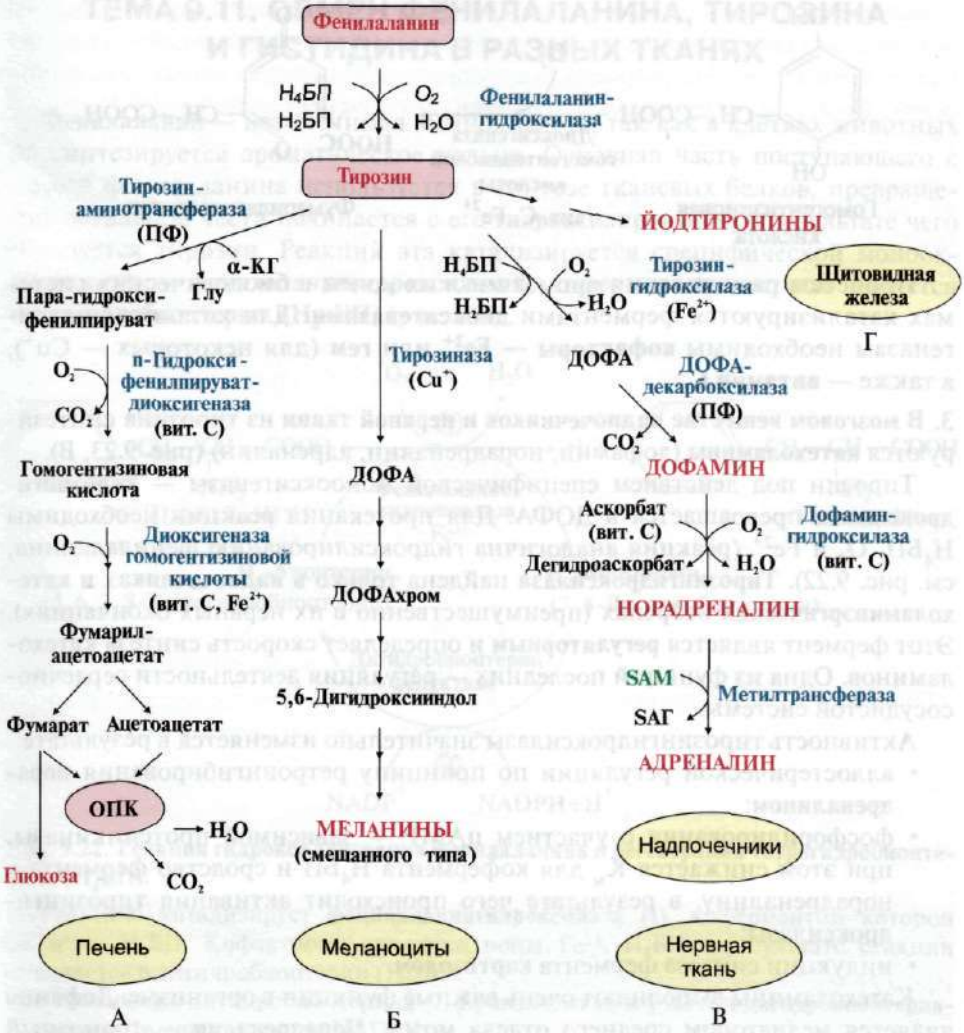


Рис. 9.23. Пути превращения фенилаланина и тирозина в разных тканях:
А — катаболизм фенилаланина и тирозина в печени; Б — синтез меланинов в меланоцитах; В — синтез катехоламинов в надпочечниках и нервной ткани; Г — синтез иодтиронинов в щитовидной железе

Обмен гистидина включает синтез гистамина в соединительной ткани, а также путь катаболизма, который происходит в печени и, частично, в коже человека.

В **печени** и коже дезаминирование гистидина катализирует фермент **гистидаза**. Образующийся уроканат только в печени способен превращаться через ряд стадий в глутамат. Наследственный дефект гистидазы вызывает

накопление гистидина в организме и развитие **гистидинемии**, которая проявляется задержкой в умственном и физическом развитии детей. Ферменты **гистидаза и уроканиназа** (рис. 9.24) являются **гепатоспецифическими**, поэтому их определение используется в клинике для диагностики поражений печени.

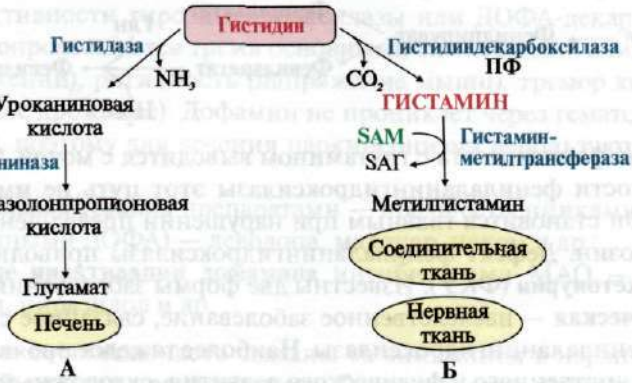


Рис. 9.24. Схема обмена гистидина в разных тканях:

А — катаболизм гистидина в печени; Б — синтез и инактивация гистамина

7. Гистамин синтезируется путем декарбоксилирования **гистидина** в тучных клетках **соединительной ткани**, образует комплекс с белками и сохраняется в секреторных гранулах. Выделяется в кровь при повреждении ткани (удар, ожог, воздействие эндо- и экзогенных веществ).

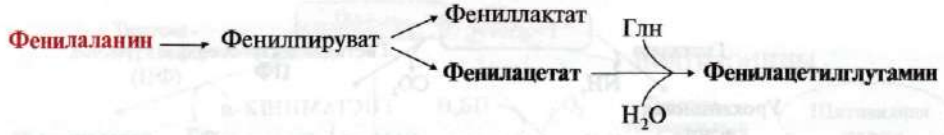
Гистамин выполняет следующие **функции**:

- стимулирует секрецию желудочного сока, слюны (пищеварительный гормон);
- обеспечивает воспалительную реакцию — расширение сосудов, покраснение кожи, отечность ткани;
- обеспечивает аллергическую реакцию;
- повышает проницаемость капилляров, вызывает отеки, снижает артериальное давление (но увеличивает внутричерепное давление, вызывает головную боль);
- сокращает гладкую мускулатуру легких, вызывает удушье;
- выполняет роль нейромедиатора.

ТЕМА 9.12. ЗАБОЛЕВАНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С НАРУШЕНИЕМ ОБМЕНА ФЕНИЛАЛАНИНА И ТИРОЗИНА

Метаболизм фенилаланина, тирозина и гистидина в разных тканях приводит к образованию различных биологически активных соединений. Дефекты ферментов обмена этих аминокислот проявляются как наследственные заболевания (энзимопатии).

1. В печени фенилаланин метаболизируется двумя путями. Большая часть не использованного для синтеза белков Фен (до 80%) **превращается в тирозин** под действием фермента фенилаланингидроксилазы при участии кофермента тетрагидробиоптерина. Небольшое его количество включается в альтернативный путь:



Конъюгат фенилацетата с глутамином выводится с мочой. При нормальной активности фенилаланингидроксилазы этот путь не имеет большого значения. Он становится главным при нарушении превращения фенилаланина в тирозин. Дефект фенилаланингидроксилазы приводит к заболеванию **фенилкетонурии** (ФКУ). Известны две формы заболевания:

- **классическая** — наследственное заболевание, связанное с мутациями в гене фенилаланингидроксилазы. Наиболее тяжелое проявление — нарушение умственного и физического развития, судорожный синдром;
- **вариантная** (биоптеринзависимая гиперфенилаланинемия) — следствие мутаций в генах, контролирующих метаболизм **тетрагидробиоптерина** (см. рис. 9.22). Клинические проявления — близкие, но не совпадающие с классической ФКУ.

Тяжелые проявления ФКУ связаны с токсическим действием на клетки мозга высоких концентраций фенилаланина, фенилпирувата, фениллактата. Большие концентрации Фен ограничивают транспорт Тир и Три через гематоэнцефалический барьер и тормозят синтез нейромедиаторов.

Тетрагидробиоптерин (H_4БП) необходим для реакций гидроксилирования не только Фен, но также Тир и Три, поэтому при недостатке этого кофермента нарушается метаболизм всех трех аминокислот, в том числе синтез нейромедиаторов — катехоламинов и серотонина. Заболевание характеризуется тяжелыми неврологическими нарушениями и ранней смертью (злокачественная ФКУ).

2. Нарушение катаболизма Тир в печени на стадии расщепления гомогентизиновой кислоты приводит к **алкаптонурии** («черная моча»). Для этого заболевания характерно выделение с мочой гомогентизиновой кислоты, которая, окисляясь кислородом воздуха, образует черные пигменты — алкаптоны. Алкаптоны способны откладываться в хрящевой ткани и суставах, что вызывает артриты и охроноз (черные пятна). Болезнь врожденная, связана с дефектом фермента **диоксигеназы гомогентизиновой кислоты.**

3. Наследственный дефект **тирозиназы** — фермента, катализирующего в меланоцитах превращение тирозина в ДОФА, вызывает нарушение синтеза темных пигментов меланинов, которое приводит к **альбинизму**. Основным клиническим проявлением альбинизма (от лат. albus — белый) являются отсутствие пигментации кожи и волос. У больных часто снижается острота

зрения и появляется светобоязнь. Длительная инсоляция таких больных приводит к ожогам и раку кожи.

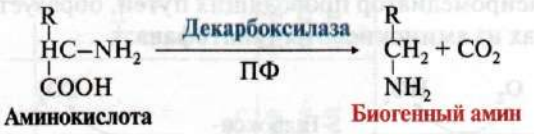
4. Недостаточность дофамина в черной субстанции мозга приводит к **болезни Паркинсона**. Это одна из самых распространенных неврологических болезней (частота встречаемости 1:200 среди людей старше 60 лет). Характеризуется снижением активности тирозингидроксилазы или ДОФА-декарбоксилазы. Заболевание сопровождается тремя основными симптомами: акинезия (скованность движений), ригидность (напряжение мышц), тремор конечностей (непроизвольное дрожание). Дофамин не проникает через гематоэнцефалический барьер, поэтому для лечения паркинсонизма используются следующие подходы:

- **заместительная терапия** препаратами — предшественниками дофамина (производными ДОФА) — леводопа, мадопар, наком и др.;
- **подавление инактивации дофамина** ингибиторами МАО — депренил, ниаламид, пиразидол и др.

5. Депрессивные состояния часто связаны со снижением в нервных клетках содержания дофамина и норадреналина. Гиперсекреция дофамина в височной доле мозга наблюдается при **шизофрении**.

ТЕМА 9.13. БИОГЕННЫЕ АМИНЫ: СИНТЕЗ, ИНАКТИВАЦИЯ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

1. Некоторые **аминокислоты** и их производные могут подвергаться **декарбоксилированию** — отщеплению α-карбоксильной группы. Продуктами реакции являются CO_2 и биогенные амины (табл. 9.7). Образование биогенных аминов происходит с участием ферментов **декарбоксилаз** в присутствии кофермента **пиридоксальфосфата**.



Биогенные амины являются биологически активными веществами, выполняют функцию нейромедиаторов (серотонин, дофамин, ГАМК), гормонов (адреналин), регуляторных факторов местного действия (гистамин).

2. В нервных клетках декарбоксилирование **глутамата** приводит к образованию **γ-аминомасляной кислоты (ГАМК)**, которая является **основным тормозным медиатором**. Инактивации ГАМК происходит либо путем трансаминирования и превращения в сукцинат, являющийся метаболитом ЦТК, либо окислительным путем под действием моноаминооксидазы (МАО) (рис. 9.25).

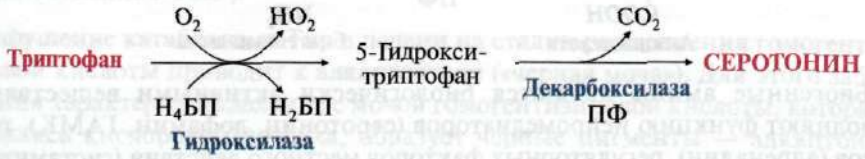
Рис. 9.25. Схема синтеза и инактивации ГАМК

ГАМК в виде препаратов гаммалон или аминалон применяют при нарушениях мозгового кровообращения, умственной отсталости, эндогенных депрессиях и травмах головного мозга.

3. В нервной ткани из серина синтезируется **ацетилхолин,** который также относится к биогенным аминам:

Нарушение образования ацетилхолина в синапсах может вызвать **миастению** — мышечную слабость.

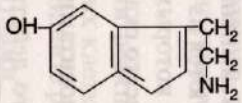
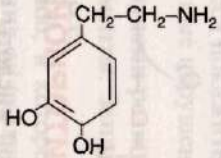
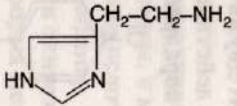
4. Серотонин — нейромедиатор проводящих путей, образуется в гипоталамусе, надпочечниках из аминокислоты **триптофана**:



Серотонин представляет собой биологически активное вещество широкого спектра действия. Он стимулирует сокращение гладкой мускулатуры, перистальтику кишечника, оказывает сосудосуживающий эффект, регулирует артериальное давление, температуру тела, дыхание, обладает антидепрессантным действием («гормон удовольствия»), принимает участие в аллергической реакции, поскольку в небольших количествах синтезируется в тучных клетках.

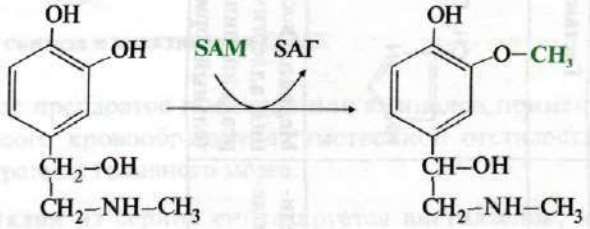
5. К биогенным аминам относятся и катехоламины (дофамин, норадреналин и адренамин) (см. рис. 9.23, В).

Таблица 9.7. Биологическая роль и предшественники некоторых биогенных аминов

Аминокислоты	**Серин**	**Триптофан**	**Тирозин**	**Глутаминовая кислота**	**Гистидин**
Продукты декарбоксилирования	Этаноламин	Триптамин		γ-Аминомасляная кислота	Гистамин
Биологически активные вещества	**Ацетилхолин**	**Серотонин**	**Дофамин**	**ГАМК**	**Гистамин**
Формулы	$H_3C-C(=O)-O-CH_2-CH_2-N^+(CH_3)_3$			$COOH-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2$	
Физиологическая роль	Возбуждающий медиатор вегетативной нервной системы	Возбуждающий медиатор средних отделов мозга	Медиатор средних отделов мозга	Тормозный медиатор высших отделов мозга	Медиатор воспаления, аллергических реакций, пищеварительный гормон

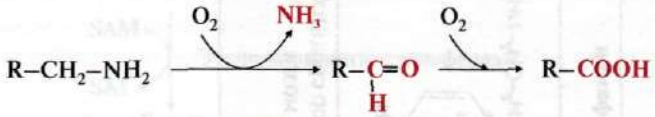
6. Инактивация биогенных аминов происходит двумя путями:

- **метилирование** с участием **SAM** под действием метилтрансфераз — характерно для **гистамина, адреналина, норадреналина**:



Адреналин Метиладреналин

- **окисление** ферментами **моноаминооксидазами (МАО)** с коферментом FAD — характерно для **дофамина, норадреналина, серотонина, ГАМК**. При окислении биогенных аминов происходит дезаминирование и образование альдегида, а затем кислоты, которые выводятся почками:



ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Проявлением гиповитаминоза фолиевой кислоты является мегалобластная анемия. Объясните, почему появляются симптомы анемии. Для этого:

а) напишите, какие производные образуются из метилен-H_4-фолата;

б) перечислите соединения, для синтеза которых они необходимы;

в) назовите ткани, на которых прежде всего скажется дефицит витамина B_C;

г) перечислите возможные причины гиповитаминоза.

2. Объясните механизм антибактериального действия сульфаниламидных лекарственных препаратов. Для этого:

а) напишите формулу фолиевой кислоты, укажите компоненты, из которых она состоит;

б) напишите формулу одного из сульфаниламидных препаратов, назовите аналогом какого соединения он является;

в) **выберите правильные ответы.**

Антибактериальная активность сульфаниламидных препаратов основана на том, что они являются:

А. Конкурентными ингибиторами ферментов синтеза фолата

Б. Аллостерическими ингибиторами

В. Псевдосубстратами

Г. Корепрессорами синтеза ферментов образования фолата

Д. Индукторами синтеза белков

г) укажите, как повлияет на антибактериальное действие сульфаниламидов добавление *п*-аминобензойной кислоты.

3. Объясните, в чем заключается биологическая функция метионина. Для этого:

а) напишите реакцию активации метионина;
б) перечислите процессы, в которых участвует —CH_3-группа метионина;
в) перечислите аминокислоты и витамины, которые необходимы для регенерации метионина;
г) напишите реакции синтеза адреналина и креатина, в которых используется активная форма метионина. Укажите ферменты и их локализацию в организме.

4. Перечислите пути использования фенилаланина и тирозина в различных тканях:

а) *напишите формулами реакции катаболизма фенилаланина в печени*, укажите ферменты и коферменты;
б) обратите внимание на то, что реакция превращения фенилаланина в тирозин является основным путем его метаболизма;
в) на схеме процесса покажите места ферментных блоков, вызывающих его наследственные нарушения; назовите эти заболевания.

5. а) Напишите формулами реакции синтеза катехоламинов, укажите ферменты и коферменты. Запишите название тканей, в которых происходит этот процесс;
б) отметьте реакцию, в которой участвует метионин; назовите, в виде какого соединения он включается в реакцию;
в) выделите регуляторную реакцию синтеза катехоламинов, назовите фермент, кофермент; перечислите механизмы регуляции и эффекторы этого фермента.

6. Напишите формулами реакцию образования гистамина, укажите фермент, кофермент. В каких клетках она происходит? Назовите способ инактивации гистамина, напишите реакцию.

7. а) Напишите формулами реакцию образования ГАМК, укажите аминокислоту-предшественник, фермент, кофермент;
б) напишите реакцию инактивации ГАМК окислительным путем, укажите фермент, кофермент;
в) объясните, почему ГАМК в виде препаратов аминалон или гаммалон используется в клинике при лечении заболеваний, связанных с резким возбуждением коры головного мозга.

8. а) Назовите, недостаточность какого нейромедиатора приводит к болезни Паркинсона; напишите реакции его синтеза и инактивации, укажите ферменты и коферменты;
б) назовите лекарственные препараты и витамины, которые можно рекомендовать при болезни Паркинсона; объясните механизмы их действия;
в) объясните, почему состояние больных улучшается при приеме ингибиторов МАО.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

В синтезе серина из 3-фосфоглицерата участвуют следующие ферменты:

А. Фосфорилаза
Б. Дегидрогеназа
В. Аминотрансфереза
Г. Метилтрансфераза
Д. Фосфатаза

2. Выберите правильный ответ.

В метаболизме серина и глицина участвует витамин:

А. Биотин
Б. Фолиевая кислота
В. Тиамин
Г. Пиридоксин
Д. Рибофлавин

3. Установите соответствие.

Процесс, реакции:

А. Реакции декарбоксилирования
Б. Синтезе пуриновых нуклеотидов
В. Реакции трансаминирования
Г. Регенерации метионина
Д. Синтезе тимидиловой кислоты

Производные H_4-фолата участвуют в:

1. Метил-H_4-фолат
2. Метилен–H_4-фолат
3. Метенил-H_4-фолат

4. Выберите правильные ответы.

Метионин в организме человека является:

А. Источником метильной группы в реакциях синтеза веществ
Б. Инициатором процесса трансляции
В. Донором CH_3-группы при обезвреживании соединений
Г. Источником серы для синтеза цистеина
Д. Предшественником гомоцистеина

5. Выберите правильные ответы.

Для регенерации метионина необходимы витамины:

А. B_1
Б. B_2
В. B_{12}
Г. Пантотеновая кислота
Д. Фолиевая кислота

6. Установите соответствие.

Место синтеза:

А. Печень
Б. Почки
В. Надпочечники

Г. Кожа
Д. Щитовидная железа

Активное вещество:

1. Меланины
2. Иодтиронины
3. Адреналин

7. Выберите правильный ответ.

Для синтеза тирозина необходим кофермент:

А. Пиридоксальфосфат
Б. H_4-фолат
В. $FADH_2$
Г. NADH
Д. H_4БП

8. Установите соответствие.

Фермент:

А. Фенилаланинтрансаминаза
Б. Фенилаланингидроксилаза
В. Тирозингидроксилаза
Г. Дофамингидроксилаза
Д. ДОФА-декарбоксилаза

Реакция:

1. Синтез тирозина
2. Образование ДОФА
3. Синтез дофамина

9. Установите соответствие.

Биогенный амин:

А. Ацетилхолин
Б. ГАМК
В. Серотонин
Г. Дофамин
Д. Норадреналин

Аминокислота-предшественник:

1. Глутамат
2. Серин
3. Триптофан

10. Выполните «цепное» задание:

а) незаменимой аминокислотой является:

А. Глу
Б. Асп
В. Мет
Г. Сер

б) активная форма этой аминокислоты образуется при взаимодействии с:

А. Ацетил-КоА
Б. УТФ
В. HS-КоА
Г. АТФ

в) образованный продукт участвует в реакции:

А. Трансаминирования
Б. Декарбоксилирования
В. Трансметилирования
Г. Трансацилирования

г) эта реакция является последней в синтезе:

А. Адреналина
Б. Дофамина
В. Аргинина
Г. Гомогентизиновой кислоты

д) полученное вещество синтезируется в:

А. Мозге
Б. Корковом слое надпочечников
В. Печени
Г. Поджелудочной железе
Д. Мозговом слое надпочечников

е) напишите формулами заключительную реакцию, которая происходит только в названном органе.

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. Б, В, Д
2. Б
3. 1—Г, 2—Д, 3—Б
4. А, Б, В, Г, Д
5. В, Д
6. 1—Г, 2—Д, 3—В
7. Д
8. 1—Б, 2—В, 3—Д
9. 1—Б, 2—А, 3—В
10. а) В, б) Г, в) В, г) А, д) Д, е) см. рис. 9.23

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Фолиевая кислота (витамин B_c)
2. Одноуглеродные производные фолиевой кислоты
3. Мегалобластная анемия
4. Сульфаниламидные препараты
5. Активная форма метионина
6. Трансметилирование
7. Регенерация метионина
8. Биогенные амины
9. Катехоламины
10. Фенилкетонурия

11. Алкаптонурия
12. Альбинизм
13. Болезнь Паркинсона
14. Гистидинемия

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ, ИЗУЧАЕМЫЕ В ДАННОЙ МОДУЛЬНОЙ ЕДИНИЦЕ

- Содержание креатинина в моче здоровых людей: **8,8—17,6 ммоль/л**
- Суточное выделение креатинина: **1—2 г** (эта величина прямо пропорциональна массе мышц)

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Больной, страдающий туберкулезом, проходил длительное лечение антибиотиками. В результате у него появились симптомы дисбактериоза и анемии (диарея, рвота, слабость, головокружение). Обследование показало снижение общего количества эритроцитов в крови пациента, увеличение их объема наряду с уменьшением содержания в них гемоглобина. Объясните причины указанных нарушений. Для этого:

а) укажите роль микрофлоры кишечника в обеспечении организма человека витамином, недостаточность которого приводит к нарушению метаболизма эритроцитов;
б) назовите заболевание, которое является первым проявлением недостаточности этого витамина;
в) напишите схему реакции превращения витамина в кофермент и представьте схему образования производных этого кофермента;
г) перечислите функции указанных соединений.

2. При обследовании пациента оказалось, что концентрация креатинина в моче составляет 30 ммоль/л (при норме 8,8—17,6 ммоль/л). Назовите, какую патологию можно предположить у этого больного, для ответа:

а) перечислите аминокислоты — предшественники креатинина;
б) напишите схему образования креатинина и укажите органы, которые участвуют в этом процессе;
в) укажите, при каких патологиях повышается содержание креатинина в моче.

3. Творог содержит все незаменимые аминокислоты. Известно, что при жировом перерождении печени больным рекомендуют употреблять в пищу много творога. Объясните, почему такая диета может улучшить состояние больного. Для этого:

а) назовите частицы, участвующие в транспорте триацилглицеролов из печени; перечислите компоненты, входящие в их состав;

б) напишите реакцию синтеза холина и укажите, какая из незаменимых аминокислот необходима для этого;

в) напишите формулу фосфолипида, в состав которого входит холин.

4. Развитие сердечно-сосудистых заболеваний иногда сопровождается повышением в крови уровня гомоцистина. При этом повышается уровень тромбообразования, формируются атеросклеротические бляшки. Гомоцистин оказывает также токсическое действие на нервную систему, гомоцистинурия отмечается при деменции и болезни Альцгеймера. Табакокурение, злоупотребление кофе повышают уровень гомоцистина в крови. Уровень его понижается при комплексной витаминотерапии витаминами B_C, B_{12}, B_6. Объясните механизм лечебного действия витаминов при гомоцистинурии. Для этого:

а) назовите аминокислоту, в процессе превращения которой в клетках образуется гомоцистеин и гомоцистин;

б) изобразите схему ресинтеза этой аминокислоты;

в) на схеме отметьте реакции, в которых участвуют перечисленные витамины;

г) перечислите биологические функции названной аминокислоты, напишите реакцию ее активации, укажите фермент;

д) приведите примеры использования активированной аминокислоты для синтеза биологически активных соединений.

5. У новорожденного ребенка в роддоме обнаружили на мокрых пеленках темные пятна. При обследовании в моче обнаружено большое количество гомогентизиновой кислоты. Объясните возможную причину наблюдаемого нарушения. Для ответа:

а) назовите соединения, накапливающиеся в моче больного, укажите, при каком заболевании наблюдается такой симптом;

б) напишите схему метаболического пути, в котором это соединение является промежуточным метаболитом; укажите ферменты и кофакторы;

в) назовите фермент, отсутствие которого является причиной заболевания;

г) используя материалы учебника (модуль 3), укажите тип мутации в гене этого фермента.

6. У ребенка 1,5 месяца содержание фенилаланина в крови составляет 34 мг/дл (норма 1,4—1,9 мг/дл), содержание фенилпирувата в моче — 150 мг/сут (норма 8—10 мг/сут). Предположите, какой патологии соответствуют результаты анализа крови и мочи. Для ответа:

а) назовите причину данного заболевания;

б) напишите реакцию, которая блокирована при данном заболевании;

в) напишите схему альтернативного пути метаболизма субстрата.

7. Пожилой пациент страдает болезнью, ранее известной как «дрожательный паралич». Основными ее симптомами являются напряжение мышц, скованность движения, непроизвольное дрожание рук и головы. Предположите, каким заболеванием страдает данный пациент. Для ответа:

а) назовите причину заболевания;
б) напишите реакции, скорость которых снижена в этом случае;
в) перечислите подходы к лечению этой патологии в медицинской практике; назовите соответствующие препараты, применяемые при лечении, и механизм их действия.

8. Для лечения депрессий легкой и средней тяжести, сопровождающихся тревожными состояниями, для улучшения настроения и повышения психической и физической активности используют препараты Деприм, Негрустин, содержащие сухой экстракт зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*). Установлено, что основные действующие вещества препаратов — гиперицин, флавоноиды — повышают количество серотонина в клетках мозга, ингибируя МАО. Объясните механизм терапевтического действия Деприма. Для этого:

а) укажите место синтеза и функции серотонина в организме;
б) напишите схему синтеза и инактивации серотонина, назовите ферменты и коферменты;
в) назовите вещества, содержание которых может повышаться в нервной системе при приеме ингибитора МАО; назовите аминокислоты — их предшественники.

Модуль 10

ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ

Темы
10.1. Биосинтез и катаболизм пуриновых рибонуклеотидов. Заболевания, связанные с нарушением их метаболизма
10.2. Биосинтез и катаболизм пиримидиновых рибонуклеотидов. Оротацидурия
10.3. Биосинтез дезоксирибонуклеотидов. Иммунодефициты
10.4. Механизмы действия противовирусных и противоопухолевых препаратов на ферменты синтеза рибо- и дезоксирибонуклеотидов

Цели изучения

Уметь:

1. Использовать знания о путях синтеза и распада нуклеотидов для понимания патогенеза заболеваний, связанных с нарушением их метаболизма.
2. Объяснять действие противовирусных и противоопухолевых препаратов — ингибиторов ферментов синтеза рибо- и дезоксирибонуклеотидов.

Знать:

1. Функции нуклеотидов и их производных в обмене веществ у эукариотов.
2. Биосинтез и катаболизм пуриновых нуклеотидов. Нарушения, приводящие к развитию подагры и синдрома Леша-Нихена.
3. Биосинтез пиримидиновых рибонуклеотидов. Причины возникновения оротацидурии.
4. Образование дезоксирибонуклеотидов. Иммунодефициты, вызванные ингибированием синтеза дезоксирибонуклеотидов.
5. Ингибиторы синтеза рибо- и дезоксирибонуклеотидов как противовирусные и противоопухолевые препараты.

Нуклеотиды и их производные выполняют многообразные функции в организме, участвуя в:

- синтезе нуклеиновых кислот и нуклеотидных коферментов;
- реакциях запасания и использования энергии (АТФ, ГТФ, УТФ и т.д.);
- образовании активных форм углеводов (УДФ-глюкозы, ГДФ-маннозы), азотистых оснований (ЦДФ-холина), сульфата (ФАФС) и метионина (SAM);
- трансдукции сигналов в клетку, являясь вторичными вестниками действия гормонов, факторов роста, нейромедиаторов и других регуляторных молекул (цАМФ, цГМФ).

ТЕМА 10.1. БИОСИНТЕЗ И КАТАБОЛИЗМ ПУРИНОВЫХ РИБОНУКЛЕОТИДОВ. ЗАБОЛЕВАНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С НАРУШЕНИЕМ ИХ МЕТАБОЛИЗМА

1. Реакции образования пуриновых нуклеотидов начинаются с синтеза **5-фосфорибозил-1-дифосфата (ФРДФ)**, являющегося общим донором фосфорибозы в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. ФРДФ образуется из рибозо-5-фосфата и АТФ в реакции, катализируемой **ФРДФ-синтетазой:**

Рибозо-5-фосфат + АТФ $\xrightarrow{\text{ФРДФ-синтетаза}}$ **5-Фосфорибозил-1-дифосфат + АМФ**

2. Основным путем образования пуриновых нуклеотидов является **синтез из простых предшественников (de novo)**.

В этом метаболическом пути свободное азотистое основание не образуется, а пуриновое кольцо формируется на остатке рибозо-5-фосфата при участии глицина, амидного азота Глн, α-NH_2-группы Асп, CO_2 и одноуглеродных производных: метенил- и формил-H_4-фолата (рис. 10.1).

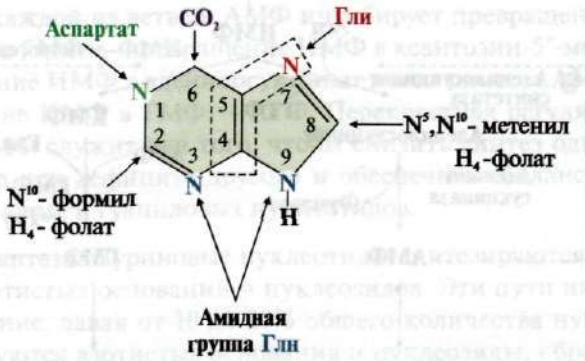


Рис. 10.1 Происхождение атомов С и N в пуриновом основании

Синтез первого пуринового нуклеотида — **инозин-5′-монофосфата (ИМФ)** включает 10 стадий и идет с затратой шести молекул АТФ. Все реакции протекают в цитозоле большинства клеток организма. Двумя последовательными реакциями ИМФ может превращаться в АМФ или ГМФ соответственно (рис. 10.2).

Регуляторной и скорость-лимитирующей стадией процесса является перенос амидной группы Глн на ФРДФ с образованием 5-фосфорибозил-1-амина, которую катализирует **ФРДФ-амидофосфорибозилтрансфераза**.

Ткани, не способные к синтезу пуринов: эритроциты, полиморфноядерные лейкоциты и частично мозг — обеспечиваются нуклеотидами за счет их синтеза в печени.

3. Синтез нуклеозиддифосфатов (НДФ) и нуклеозидтрифосфатов (НТФ) происходит при участии АТФ и ферментов **нуклеозидмонофосфат-** или **нуклеозиддифосфаткиназ** (НМФ- и НДФ-киназы соответственно) (рис. 10.3).

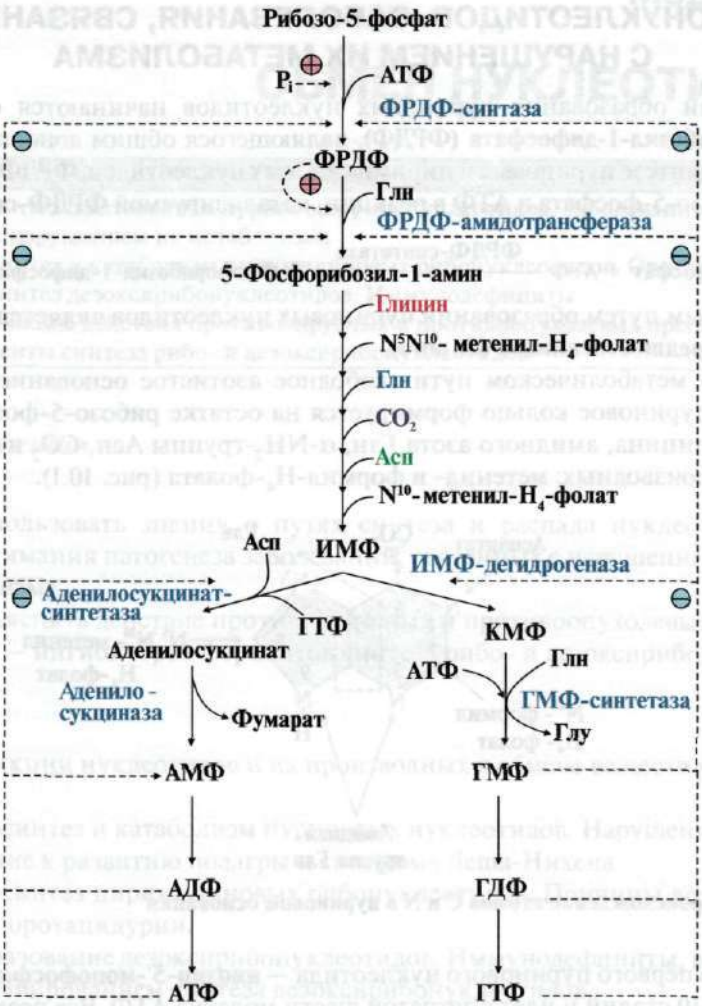


Рис. 10.2. Синтез пуриновых нуклеотидов и его регуляция.

Перенос амидной группы Глн на ФРДФ и образование 5-фосфорибозил-1-амина катализирует ФРДФ-амидофосфорибозилтрансфераза. Затем с аминогруппой 5-фосфорибозил-1-амина последовательно взаимодействуют остаток Гли, N^5N^{10}-метенил-H_4-фолат, еще одна амидная группа Глн, диоксид углерода, аминогруппа Асп и формильный радикал N^{10}-формил-H_4-фолата. Синтезируется первый пуриновый нуклеотид — инозин-5′-монофосфат (ИМФ). На этом этапе метаболический путь раздваивается и ИМФ становится общим предшественником АМФ и ГМФ, каждый из которых получается в двух последовательных реакциях. В процессе синтеза АМФ из ИМФ используется энергия молекулы ГТФ, а при синтезе ГМФ — энергия АТФ. ФРДФ-амидофосфорибозилтрансфераза, аденилосукцинат-синтетаза и ИМФ-дегидрогеназа — аллостерические ферменты, и их активность регулируется по механизму отрицательной обратной связи

$$\text{АМФ} + \text{АТФ} \xrightarrow{\text{АМФ-киназа}} 2\,\text{АДФ}$$

$$\text{ГМФ} + \text{АТФ} \xrightarrow{\text{ГМФ-киназа}} \text{ГДФ} + \text{АДФ}$$

$$\text{НДФ} + \text{АТФ} \xrightarrow{\text{НДФ-киназа}} \text{НТФ} + \text{АДФ}$$

Рис. 10.3. Синтез пуриннуклеозидди- и -трифосфатов

4. Регуляция процесса. АМФ, ГМФ, ИМФ, ди- и трифосфаты адениловых *и гуаниловых нуклеотидов ингибируют ключевые реакции своего синтеза* **аллостерически** по механизму отрицательной обратной связи.

Первые два фермента — **ФРДФ-синтетаза** и **ФРДФ-амидофосфорибозилтрансфераза** определяют скорость синтеза пуриновых нуклеотидов по основному пути, и их ингибирование происходит лишь при одновременном повышении концентрации АМФ и ГМФ. Активность **аденилосукцинат-синтетазы** и **ИМФ-дегидрогеназы**, находящихся на разветвлении метаболического пути, снижается при увеличении количества конечного продукта, образующегося в каждой из ветвей. АМФ ингибирует превращение ИМФ в аденилосукцинат, а ГМФ — превращение ИМФ в ксантозин-5′-монофосфат (КМФ). Превращение ИМФ в аденилосукцинат в ходе синтеза АМФ требует ГТФ, а превращение КМФ в ГМФ — АТФ. Перекрестная регуляция путей использования ИМФ служит для того, чтобы снизить синтез одного пуринового нуклеотида при дефиците другого и обеспечить сбалансированное содержание адениловых и гуаниловых нуклеотидов.

5. Запасные пути синтеза. Пуриновые нуклеотиды синтезируются «запасными» путями из азотистых оснований и нуклеозидов. Эти пути имеют вспомогательное значение, давая от 10 до 20% общего количества нуклеотидов. При этом используются азотистые основания и нуклеозиды, образующиеся в процессе катаболизма нуклеиновых кислот («путь спасения»). Эти реакции катализируют ферменты:

а) **гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза**, которая использует в качестве субстратов гипоксантин и гуанин:

$$\text{Гуанин} + \text{ФРДФ} \longrightarrow \text{ГМФ} + H_4P_2O_7$$

$$\text{Гипоксантин} + \text{ФРДФ} \longrightarrow \text{ИМФ} + H_4P_2O_7;$$

б) **аденин-фосфорибозилтрансфераза**, отвечающая за образование АМФ из аденина и ФРДФ:

$$\text{Аденин} + \text{ФРДФ} \longrightarrow \text{АМФ} + H_4P_2O_7.$$

Еще один «запасной» путь включает фосфорилирование пуриновых нуклеозидов с помощью АТФ. Так, **аденозинкиназа** катализирует фосфорилирование аденозина до АМФ или дезоксиаденозина до дАМФ:

$$\text{Аденозин} + \text{АТФ} \longrightarrow \text{АМФ} + \text{АДФ}.$$

6. Катаболизм пуриновых нуклеотидов. Гиперурикемия, подагра. Мононуклеотиды теряют фосфатный остаток гидролитически под действием **фосфатаз** или **нуклеотидаз** с образованием нуклеозидов. Дальнейшие превращения в мочевую кислоту сопровождаются гидролитическим дезаминированием с участием **аденозиндезаминазы** или **гуаназы** и отщеплением рибозы, которое ускоряется **пуриннуклеозидфосфорилазой** (рис. 10.4).

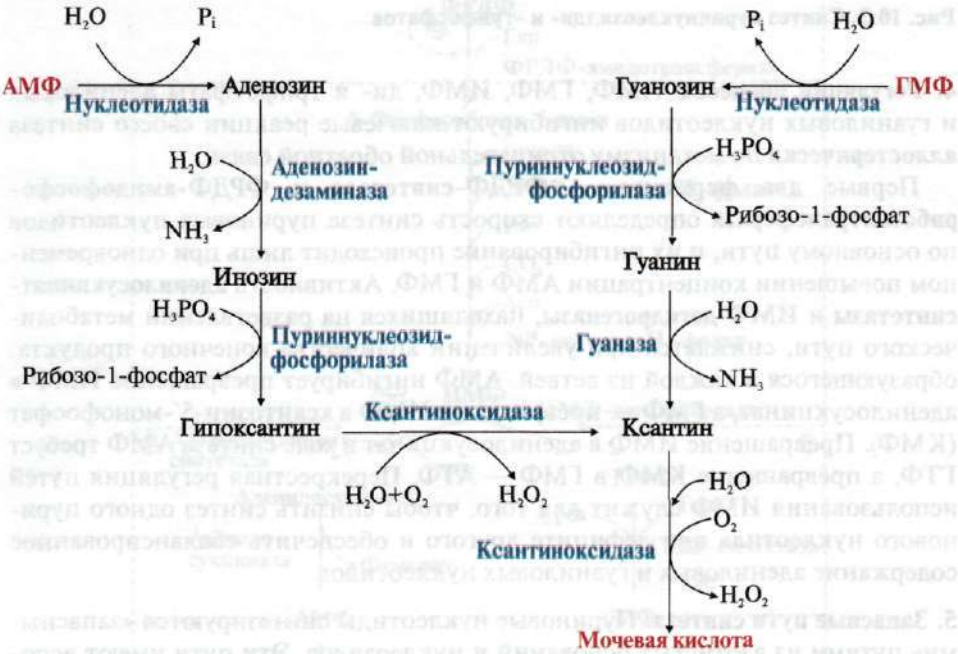


Рис. 10.4. Катаболизм пуриновых нуклеотидов. Образование мочевой кислоты.

Мононуклеотиды под действием фосфатаз или нуклеотидаз теряют фосфатный остаток и превращаются в нуклеозиды. Аденозин дезаминируется, отщепляет рибозу и образует гипоксантин. Гуанозин в результате сходных реакций превращается в ксантин. Под действием ксантиноксидазы гипоксантин и ксантин окисляются в мочевую кислоту

Последние стадии процесса катализирует фермент **ксантиноксидаза**, участвующая в превращении азотистых оснований в конечный продукт. Она окисляет гипоксантин в ксантин и ксантин в мочевую кислоту с участием молекулярного кислорода. Образование мочевой кислоты происходит главным образом в печени и кишечнике. У человека мочевая кислота является конечным продуктом обмена пуринов и выводится из организма с мочой и немного через кишечник.

В норме содержание мочевой кислоты в сыворотке крови составляет 0,15—0,47 ммоль/л, или 3—7 мг/дл, а в суточной моче — 400—600 мг/дл.

Частым нарушением катаболизма пуринов является **гиперурикемия**, которая возникает, когда в плазме крови концентрация мочевой кислоты превышает норму.

На фоне гиперурикемии развивается **подагра** — заболевание, при котором мочевая кислота и ураты из-за плохой растворимости начинают кристаллизоваться и откладываться в суставных хрящах, связках и мягких тканях с образованием подагрических узлов или тофусов, вызывая воспаление суставов и почечнокаменную болезнь. Подагрой страдает от 0,3 до 1,7% населения земного шара. У мужчин сывороточный фонд уратов в 2 раза выше, чем у женщин, поэтому они болеют подагрой в 20 раз чаще, чем женщины.

Заболевание генетически детерминировано и вызвано:

- **дефектами ФРДФ-синтетазы**, связанными с гиперактивацией фермента, либо его устойчивостью к ингибированию конечными продуктами синтеза;
- **частичной потерей активности гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы**, которая обеспечивает повторное использование пуринов.

При полной потере активности гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы развивается тяжелая форма гиперурикемии — **синдром Леша-Нихена**, при котором наблюдаются неврологические и психические отклонения. В первые месяцы жизни детей неврологические расстройства еще не наблюдаются, но на пеленках обнаруживаются розовые и оранжевые пятна, вызванные повреждением мочевыводящих путей кристаллами мочевой кислоты. Болезнь наследуется как рецессивный признак, сцепленный с Х-хромосомой, и встречается только у мальчиков.

Лечат подагру диетой, ограничивающей потребление мясных продуктов, и **аллопуринолом** — структурным аналогом гипоксантина. Ксантиноксидаза окисляет препарат в оксипуринол, который прочно связывается с активным центром фермента и останавливает катаболизм пуринов на стадии гипоксантина, который в 10 раз лучше растворим в жидкостях организма, чем мочевая кислота.

ТЕМА. 10.2. БИОСИНТЕЗ И КАТАБОЛИЗМ ПИРИМИДИНОВЫХ РИБОНУКЛЕОТИДОВ. ОРОТАЦИДУРИЯ

1. УМФ является общим предшественником всех остальных пиримидиновых нуклеотидов: ЦМФ и ТМФ. **Синтез УМФ de novo** включает шесть последовательных стадий (рис. 10.5) и протекает главным образом в цитозоле клеток при участии трех ферментов, два из которых полифункциональны:

- первый полифункциональный фермент — **КАД-фермент** содержит домены, проявляющие активности карбамоилфосфатсинтетазы II (КФСII), аспартаттранскарбамоилазы (АТК), дигидрооротазы и катализирующие три первые реакции этого метаболического пути;
- митохондриальная NAD-зависимая **дигидрооротатдегидрогеназа** которая окисляет дигидрооротат в оротат;
- превращение азотистого основания — оротата в нуклеотид и его последующее декарбоксилирование до УМФ катализирует второй полифункциональный фермент – **УМФ-синтаза**, обладающая оротатфосфорибозилтрансферазной и ОМФ-декарбоксилазной активностями.

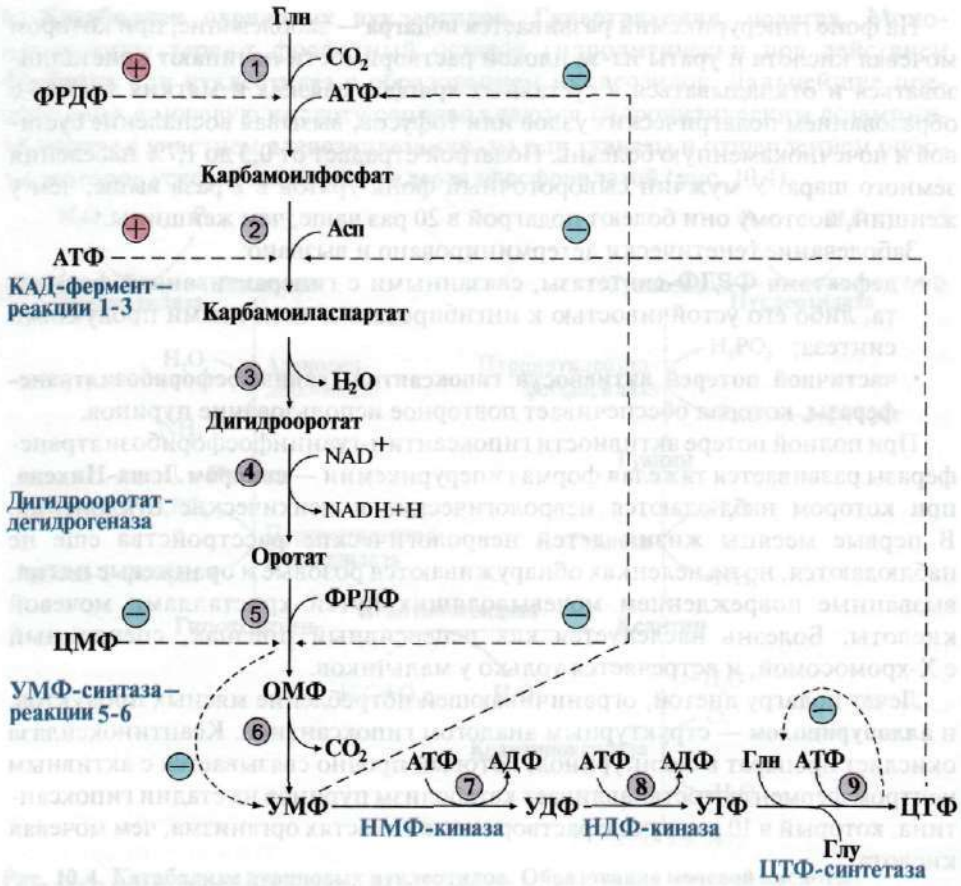


Рис. 10.5. Синтез пиримидиновых нуклеотидов и его регуляция:

1—3 — КАД-фермент (1-карбамоилфосфатсинтетаза, КФСII); 2 — аспартаттранскарбамоилаза (АТК); 3 —дигидрооротаза; 4 — дигидрооротатдегидрогеназа; 5, 6 — УМФ-синтаза (5-оротатфосфорибозилтрансфераза; 6 — ОМФ-декарбоксилаза); 7 — НМФ-киназа; 8 — НДФ-киназа; 9 — ЦТФ-синтетаза.

Аллостерически регулируются по механизму отрицательной обратной связи карбамоилфосфатсинтетазная и аспататранскарбамоилазная активности КАД-фермента конечными продуктами метаболического пути — УМФ и ЦТФ, тогда как ФРДФ активизирует КФСII, а АТФ – АТК

Пиримидиновое кольцо «собирается» из простых предшественников — глутамина, аспартата и CO_2 — и после окисления превращается в азотистое основание — оротат. Превращение оротата в нуклеотид — оротидин-5′-монофосфат (ОМФ) — осуществляется с использованием ФРДФ. УМФ образуется при декарбоксилировании ОМФ.

Превращение УМФ в полифосфорные производные за счет переноса γ-фосфатного остатка АТФ на УМФ с образованием УДФ и УТФ катализируют **НМФ- и НДФ-киназы**.

Синтез ЦТФ из УТФ осуществляет **ЦТФ-синтетаза**, используя амидную группу Глн и энергию АТФ для аминирования пиримидинового кольца.

2. Регуляция процесса. Активность ферментов синтеза пиримидиновых нуклеотидов регулируется **аллостерически по механизму отрицательной обратной связи** конечными продуктами УМФ и ЦТФ:

- в составе КАД-фермента: УМФ ингибирует, а ФРДФ активирует КФС II, тогда как активность аспартаттранскарбамоилазы ингибирует ЦТФ, но активирует АТФ;
- УМФ и ЦМФ снижают активность второго полифункционального фермента — УМФ-синтазы;
- накопление ЦТФ снижает активность ЦТФ-синтетазы.

Синтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов строго координируется: ФРДФ активирует оба синтеза, а накопление пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов ингибирует образование ФРДФ по механизму отрицательной обратной связи.

3. Подобно пуринам, пиримидиновые азотистые основания и нуклеозиды могут превращаться в нуклеотиды по **запасным путям** в реакциях, катализируемых **пиримидинфосфорибозилтрансферазой**:

$$\underset{\text{(У или Ц)}}{\textbf{Пиримидин}} + \textbf{ФРДФ} \longrightarrow \underset{\text{(УМФ или ЦМФ)}}{\textbf{Пиримидинмонофосфат}} + H_4P_2O_7$$

и уридин-цитидинкиназой, превращающей нуклеозид в нуклеотид:

$$\textbf{Уридин} + \textbf{АТФ} \longrightarrow \textbf{УМФ} + \textbf{АДФ}.$$

Кроме того, **уридинфосфорилаза** способна обращать реакцию деградации нуклеозида

$$\textbf{Урацил} + \textbf{Рибозо-1-фосфат} \longrightarrow \textbf{Уридин} + H_3PO_4.$$

4. Оротацидурия — редкое наследственное заболевание, при котором в результате мутации в гене второго полифункционального фермента нарушается превращение оротата в УМФ. С мочой выделяется до 1,5 г оротата (в 1000 раз больше, чем в норме). Клинически заболевание проявляется в виде мегалобластной анемии, нарушений работы ЖКТ, сердца, интеллектуального развития и двигательной способности. Высокие концентрации оротата в крови и тканях нетоксичны для организма, а указанные симптомы возникают в результате неспособности организма из-за **«пиримидинового голода»** обеспечить нормальную скорость синтеза нуклеиновых кислот и увеличения числа клеток. Наиболее характерным следствием оротацидурии является **мегалобластная анемия**, вызванная снижением скорости деления клеток эритроцитарного ряда. Для лечения этой болезни используют уридин или цитидин в дозах от 0,5 до 1 г/сут, которые с помощью уридин-цитидинкиназы превращаются в УМФ или ЦМФ в обход нарушенной реакции. Полифосфорные производные полученных нуклеотидов — УТФ и ЦТФ — ингибируют регуляторные ферменты синтеза пиримидиновых нуклеотидов de novo и снижают синтез и выведение оротата с мочой.

5. Катаболизм пиримидиновых нуклеотидов. От пиримидиновых нуклеотидов отщепляются остатки фосфорной кислоты и рибозы в реакциях, аналогичных катаболизму пуриновых нуклеотидов. Образующиеся пиримидиновые основания способны разрушаться ферментными системами организма с образованием ряда продуктов (рис. 10.6).

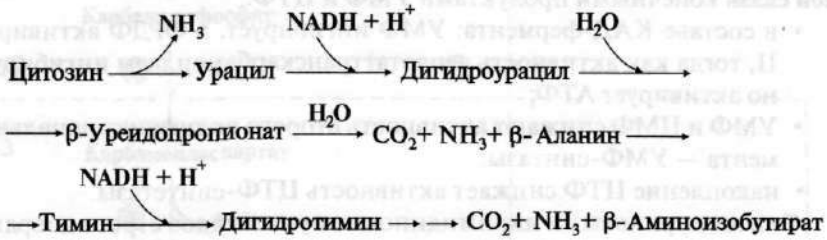


Рис. 10.6. Катаболизм пиримидиновых оснований

В отличие от конечных продуктов пуринового обмена продукты катаболизма пиримидинов хорошо растворимы в воде. Причем **β-аланин** имеет физиологическое значение, содержится во многих тканях и в плазме крови в свободном виде или включается в состав мышечных пептидов: **карнозина** и **ансерина**. Бактериальные клетки используют β-аланин для синтеза пантотеновой кислоты, которая входит в состав HS-KoA.

β-Аминоизобутират, образующийся при распаде тимина, частично экскретируется с мочой, а частично трансаминируется, превращаясь в метилмалонил полуальдегид, а затем в сукцинил-KoA.

ТЕМА 10.3. БИОСИНТЕЗ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДОВ. ИММУНОДЕФИЦИТЫ

Клетки, как правило, содержат в 5—10 раз больше РНК, чем ДНК. Быстрорастущие клетки для репликации генома нуждаются в дезоксирибонуклеозидтрифосфатах (дНТФ), которые образуются путем прямого восстановления гидроксильной группы рибозы в дезоксирибозу в составе пуриновых и пиримидиновых НДФ и последующего фосфорилирования дНДФ с использованием АТФ.

1. Восстановление всех рибонуклеотидов катализирует **рибонуклеотидредуктазный комплекс**, который включает **рибонуклеотидредуктазу** (РНРазу), белковый кофактор **тиоредоксин** и систему его регенерации: фермент **тиоредоксинредуктазу** и **NADPH** (рис. 10.7). Непосредственным восстановителем НДФ является тиоредоксин, сульфгидрильные группы которого в ходе этой реакции окисляются.

2. РНРаза — аллостерический фермент и его активность зависят от количественного содержания отдельных дезоксирибонуклеотидов в клетке. дАТФ является ингибитором восстановления всех рибонуклеотидов, а дГТФ подавляет восстановление пиримидиновых НДФ.

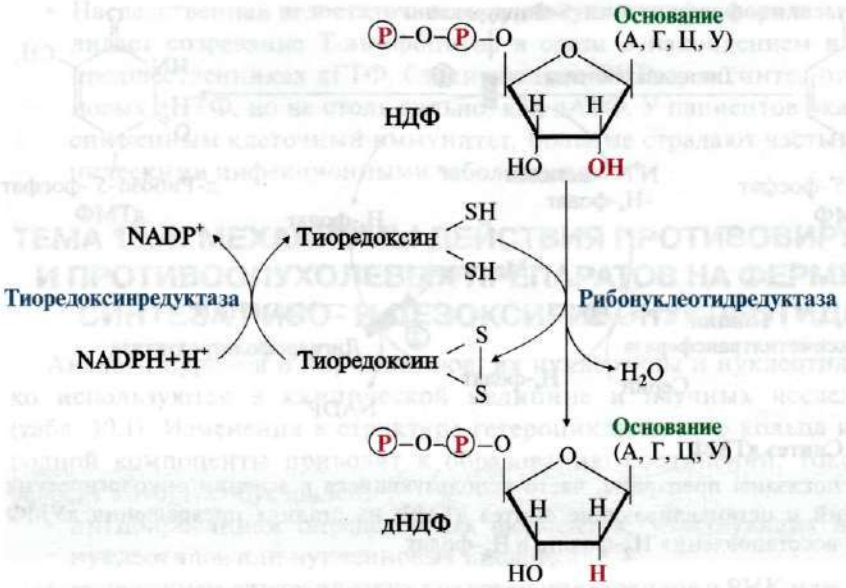


Рис. 10.7. Восстановление рибонуклеозиддифосфатов в дезоксипроизводные.

Восстановителем НДФ является тиоредоксин, сульфгидрильные группы которого окисляются в ходе этой реакции. Окисленный тиоредоксин восстанавливается тиоредоксинредуктазой с участием NADPH

3. Синтез дТМФ из дУМФ катализирует **тимидилатсинтаза** с участием N^5N^{10}-метилен H_4-фолата, за счет которого:

- включается одноуглеродный радикал в молекулу дУМФ и
- восстанавливается метиленовая группа в метильную.

Тимидилатсинтаза не только переносит метиленовую группу N^5N^{10}-метилен-H_4-фолата в 5-положение пиримидинового основания дУМФ, но в процессе восстановления ее в метильный радикал забирает два атома водорода от H_4-фолата, поэтому восполнение запасов N^5N^{10}-метилен-H_4-фолата нуждается в работе еще двух ферментов: **дигидрофолатредуктазы** и **серинокcиметилтрансферазы** (рис. 10.8).

Интенсивность синтеза дТМФ зависит от скорости восстановления продукта реакции дигидрофолата в H_4-фолат с помощью дигирофолатредуктазы.

Образование дУМФ осуществляется двумя путями: дефосфорилированием дУДФ или дефосфорилированием дЦДФ и последующим гидролитическим дезаминированием дЦМФ с помощью **дЦМФ-дезаминазы**. В организме человека преобладает последний путь.

4. Количество ферментов РНРазы и тимидилатсинтазы **регулируется** на генетическом уровне **по механизму индукции** и зависит от скорости синтеза ДНК. Их количество увеличивается и высокая скорость реакций, катализируемых РНРазой и тимидилатсинтазой, наблюдаются только тогда, когда клетки активно синтезируют ДНК и готовятся к делению.

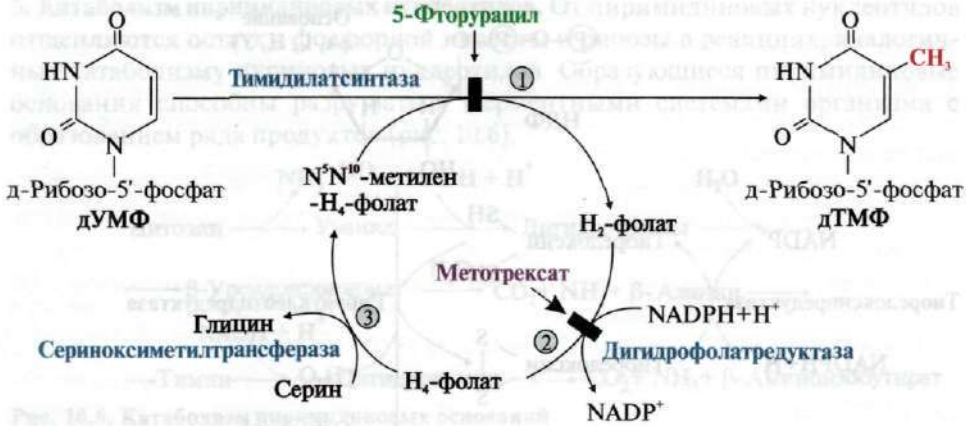


Рис. 10.8. Синтез дТМФ

На схеме показаны препараты, часто использующиеся в лечении онкологических заболеваний и останавливающие синтез дТМФ на стадиях превращения дУМФ в дТМФ и восстановления H_2-фолата в H_4-фолат

5. Небольшое количество дезоксирибонуклеотидов может образовываться по **«запасному» пути** в реакциях, катализируемых **тимидинкиназой и дезоксицитидинкиназой**:

$$\text{Тимидин + АТФ} \xrightarrow{\text{Тимидинкиназа}} \text{дТМФ + АДФ}$$

$$\text{Дезоксицитидин + АТФ} \xrightarrow{\text{Дезоксицитидинкиназа}} \text{дЦМФ + АДФ}.$$

Дезоксицитидинкиназа фосфорилирует также дезоксигуанозин и дезоксиаденозин.

6. Иммунодефициты — состояния, связанные с нарушением функций иммунной системы. Они **возникают при ингибировании работы РНРазы**, вызванном недостаточностью ферментов катаболизма аденозина и гуанозина. **Недостаточность аденозиндезаминазы** и **пуриннуклеозидфосфорилазы** снижает скорость превращения пуриновых нуклеозидов в азотистые основания и мочевую кислоту. В клетках накапливаются избыточные количества рибо- и дезоксирибонуклеотидов, вызывая в быстро делящихся клетках повышение концентрации дАТФ и дГТФ, которые тормозят восстановление всех остальных НДФ в дезоксипроизводные. Это останавливает синтез ДНК и деление клеток.

- **Низкая активность аденозиндезаминазы** нарушает пролиферацию и созревание Т- и В-лимфоцитов и сопровождается возникновением тяжелых форм клеточного и гуморального иммунодефицита. Накопление дАТФ ингибирует РНРазу и лишает клетки субстратов для синтеза ДНК. Дети с этой патологией, как правило, погибают от частых инфекций.

- Наследственная **недостаточность пуриннуклеозидфосфорилазы** останавливает созревание Т-лимфоцитов в связи с накоплением в клетках-предшественниках дГТФ, блокирующего РНРазу и синтез пиримидиновых дНТФ, но не столь сильно, как дАТФ. У пациентов оказывается сниженным клеточный иммунитет. Больные страдают частыми и хроническими инфекционными заболеваниями.

ТЕМА 10.4. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ФЕРМЕНТЫ СИНТЕЗА РИБО- И ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДОВ

Аналоги пуринов и пиримидинов, их нуклеозиды и нуклеотиды широко используются в клинической медицине и научных исследованиях (табл. 10.1). Изменения в структуре гетероциклического кольца или углеводной компоненты приводят к образованию соединений, токсический эффект которых обусловлен:

- *ингибированием определенных ферментов, участвующих в синтезе* нуклеотидов или нуклеиновых кислот;
- включением синтетических аналогов нуклеотидов в РНК или ДНК, где они нарушают комплементарное взаимодействие азотистых оснований или удлинение полинуклеотидных цепей.

Таблица 10.1. Некоторые противоопухолевые и противовирусные препараты

Соединения	Механизм действия	Область применения
5-Фторурацил	Превращается в рибо- и дезоксирибонуклеотиды, которые ингибируют тимидилатсинтазу и рост цепей РНК	Лечение солидных опухолей желудка, ЖКТ, молочной железы, легких и др.
Метотрексат	Структурный аналог фолиевой кислоты, *ингибирует дигидрофолатредуктазу,* нарушает синтез пуриновых нуклеотидов и превращение дУМФ в дТМФ	Химиотерапия *опухолей*
Ацикловир (ацикло-гуанозин)	Превращается в соответствующий НТФ и останавливает синтез вирусной ДНК	Лечение герпесных инфекций
Азидотимидин (АЗТ)	Фосфорилируется с образованием АЗТ-трифосфата и блокирует репликацию вируса иммунодефицита	Лечение СПИДа

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Систематизируйте знания о функциях нуклеотидов. Для этого перенесите в тетрадь и заполните табл. 10.2. В ходе этой работы используйте сведения из учебника о значении нуклеотидов в трансдукции сигналов, синтезе нуклеиновых кислот и белков, регуляции дыхания, а также в образовании углеводов, сложных липидов и аминокислот.

Таблица 10.2. Функции нуклеотидов и их производных

№	Нуклеотиды и их производные	Функции
1	АТФ, ГТФ	
2	АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ	
3	дАТФ, дГТФ, дЦТФ,дТТФ	
4	NAD^+, $NADP^+$, FAD, HSKoA	
5	S-аденозилметионин	
6	цАМФ, цГМФ	
7	УДФ-глюкоза, УДФ-галактоза, ГДФ-манноза, УДФ-N-ацетил-глюкозамин, ЦМФ-ацетилнейраминовая кислота	
8	ЦДФ-холин, ЦДФ-этаноламин	
9	[АТФ]/[АДФ]	

2. Напишите две начальные регуляторные реакции синтеза пуриновых нуклеотидов с образованием 5-фосфорибозил-1-амина. Укажите ферменты, их активаторы и ингибиторы.

3. Напишите строение аденина и тимина и укажите происхождение атомов С и N в этих азотистых основаниях. Отметьте, какие атомы азотистых оснований будут участвовать в связывании с рибозой или дезоксирибозой.

4. Напишите схему реакций, в ходе которых ИМФ превращается в ГМФ и АМФ. Укажите регуляторные ферменты, их активаторы и ингибиторы.

5. Синдром Леша-Нихена — наследственное заболевание, связанное с полным отсутствием активности фермента гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы. Напишите схемы реакций, которые не осуществляются в организме больных, страдающих указанной патологией. Укажите, как используются субстраты этого фермента в данном случае.

6. а) Напишите схему метаболического процесса, в котором участвуют ферменты: аденозиндезаминаза, пуриннуклеозидфосфорилаза и ксантиноксидаза.

б) **Установите соответствие.**

Ферменты:

А. Аденозиндезаминаза
Б. Пуриннуклеозидфосфорилаза
В. Ксантиноксидаза
Г. Гуаназа
Д. Гипоксантингуанинфосфорибозилтрансфераза

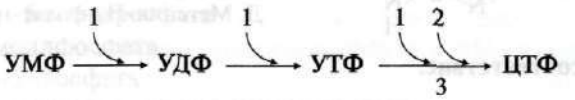
Характеристика:

1. Катализирует фосфоролитическое расщепление нуклеозидов
2. Относится к классу оксидоредуктаз
3. Катализирует превращение аденозина в инозин

в) Укажите, какие патологии связаны с недостаточностью аденозиндезаминазы и пуриннуклеозидфосфорилазы в Т- и В-лимфоцитах.

7. Напишите схему синтеза пиримидиновых нуклеотидов до образования УМФ. Укажите ферменты, катализирующие отдельные стадии процесса. Отметьте регуляторные ферменты, их активаторы и ингибиторы. Опишите заболевание, которое связано с недостаточностью фермента УМФ-синтазы.

8. Дополните схему превращения УМФ в ЦТФ недостающими компонентами, подобрав к цифрам буквы:



А. НМФ-киназа
Б. НДФ-киназа
В. ЦТФ-синтетаза
Г. Глутамин
Д. АТФ

9. Напишите схему синтеза УМФ по запасному пути с участием уридинцитидинкиназы. Назовите наследственное заболевание, при котором с помощью этой реакции у больных устраняется «пиримидиновый голод».

10. На схеме превращения ЦДФ в дЦДФ изобразите сопряженный процесс, в ходе которого восстанавливается окисленный тиоредоксин. Укажите ферменты и кофермент, участвующие в этих реакциях. Перечислите метаболиты, ингибирующие скорость этой реакции по аллостерическому механизму.

11. Перенесите в тетрадь табл. 10.3 и, используя информацию рис. 10.7 и 10.8, заполните ее.

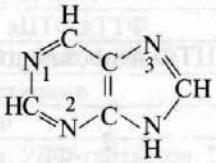
Таблица 10.3. Пути синтеза дезоксирибонуклеотидов

№ п/п	Компоненты реакций	Биосинтез дАДФ, дГТФ, дУДФ, дЦДФ	Биоситез дТМФ
1.	Субстраты		
2	Ферменты		
3.	Доноры Н в реакциях восстановления Донор CH_3-группы		

12. Составьте схему реакций превращения 5-F-У в активный ингибитор тимидилатсинтазы — д5-F-УМФ, имея в виду, что компонент УМФ-синтазы — оротатфосфорибозилтрансфераза может превращать аналоги пиримидинов в нуклеотиды. Укажите механизм, по которому это соединение снижает активность тимидилатсинтазы.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. К пронумерованным атомам пурина подберите соединения, которые используются в его синтезе:



А. Глицин
Б. Глутамин
В. CO_2
Г. Аспартат
Д. Метенил-H_4-фолат

2. Установите соответствие.

Реакции:

1. ФРДФ + ? → 5-Фосфорибозил-1-амин
2. ИМФ + Асп + ГТФ → ? + ГДФ + P_i
3. Рибозо-5-ф + АТФ → ? + АМФ

Недостающие компоненты:

А. Глн
Б. Аденилосукцинат
В. Глу
Г. ФРДФ
Д. АТФ

3. Установите соответствие.

Ферменты:

А. Ксантиноксидаза
Б. Гуаназа
В. Пуриннуклеозидфосфорилаза
Г. Аденозиндезаминаза
Д. Нуклеотидаза

Реакции:

1. Образование аденозина из АМФ
2. Введение гидроксильной группы в C_8-положение пуринового кольца
3. Превращение нуклеозида в азотистое основание

4. Выберите правильные ответы.

Ксантиноксидаза:

А. Содержит в рабочей части фермента производное витамина PP
Б. Катализирует реакции, в которых одним из продуктов является H_2O_2
В. Обладает абсолютной специфичностью к субстрату
Г. Использует в качестве субстрата — гипоксантин, который растворим хуже, чем мочевая кислота
Д. Катализирует две последовательные необратимые реакции образования мочевой кислоты

5. Выполните «цепное» задание:

а) одним из субстратов синтеза УМФ является:

А. Аспарагин
Б. Глутамин
В. Аланин
Г. Аргинин

б) выбранная аминокислота вступает в реакцию образования:

А. 5-Фосфорибозил-1-дифосфата
Б. Инозин-5-монофосфата
В. Карбамоилфосфата
Г. Рибозо-5-фосфата

в) это вещество последовательно подвергается:

А. Конденсации с аспарагиновой кислотой, дегидратации, дегидрированию
Б. Дегидрированию, конденсации с аспарагиновой кислотой, дегидратации
В. Дегидратации, конденсации с аспарагиновой кислотой, дегидрированию
Г. Конденсации с аспарагиновой кислотой, дегидрированию, дегидратации

г) в результате образуется свободное пиримидиновое основание:

А. Урацил
Б. Цитозин
В. Тимин
Г. Оротат

д) при повышении концентрации в организме этого основания развивается:

А. Подагра
Б. Синдром Леша-Нихена
В. Оротацидурия
Г. Гиперурикемия

е) при лечении этого заболевания используют:

А. АТФ
Б. Оротат
В. Урацил
Г. Уридин
Д. Тимин

6. Выберите правильные ответы.

Для карбамоилфосфатсинтетазы II в составе КАД-фермента характерно, что:

А. Фермент локализован в цитозоле клеток
Б. Субстратами КФС II являются CO_2, NH_3 и две молекулы АТФ
В. Продукт реакции — карбамоилфосфат является макроэргическим соединением
Г. Фермент катализирует обратимую реакцию
Д. Относится к классу трансфераз

7. Выберите правильный ответ.

Компонент РНР-азного комплекса, участвующий в восстановлении гидроксильной группы в C_2 -положении рибозы:

А. NADH
Б. NADPH
В. Тиоредоксин
Г. Тиоредоксинредуктаза
Д. $FADH_2$

8. Выберите правильные ответы.

В превращении дУМФ в дТМФ участвуют ферменты:

А. Тимидилатсинтаза
Б. Дигидрофолатредуктаза
В. Фосфатаза
Г. дЦМФ-дезаминаза
Д. Серинокситилтрансфераза

9. Выберите правильный ответ.

В активно делящихся клетках тимидин активно превращается в дТМФ при участии:

А. Пиримидинфосфорибозилтрансферазы
Б. ФРДФ
В. АТФ
Г. Тимидилатсинтазы
Д. Тимидинкиназы

10. Установите соответствие.

Ингибируемые реакции:

А. Образование дТМФ из дУМФ
Б. Образование дАДФ из АДФ
В. Восстановление тиоредоксина
Г. Образование H4-фолата из H2-фолата
Д. Репликация вирусной ДНК

Противоопухолевые препараты:

1. Ацикловир
2. 5-F-урацил
3. Метотрексат

11. Выберите правильные ответы.

Аналоги фолиевой кислоты — мощные ингибиторы пролиферации, так как они:

А. Являются конкурентными ингибиторами дигидрофолатредуктазы
Б. Нарушают синтез пуринового кольца
В. Уменьшают скорость превращения дУМФ в дТМФ
Г. Снижают образование АМФ и ГМФ из ИМФ
Д. Нарушают превращение УТФ в ЦТФ

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. 1—Г, 2—Б, 3—А
2. 1—А, 2—Б, 3—Г
3. 1—Д, 2—А, 3—В
4. Б, Д
5. а) Б, б) В, в) А, г) Г, д) В, е) Г, Д
6. А, В
7. В
8. А, Б, Д
9. Д
10. 1—Д, 2—А, 3—Г
11. А, Б, В

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Синтез пуриновых нуклеотидов из простых предшественников (de novo)
2. Запасные пути образования пуриновых нуклеотидов
3. Катаболизм пуринов
4. Гиперурикемия
5. Подагра
6. Синдром Леша-Нихена
7. Синтез пиримидиновых нуклеотидов de novo
8. *Оротацидурия*
9. Рибонуклеотидредуктазный комплекс
10. Тимидилатсинтазный комплекс
11. Иммунодефициты как результат недостаточности ферментов катаболизма пуриннуклеозидов
12. Ингибиторы синтеза дезоксирибонуклеотидов

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Через 1 час после внутривенного введения животным аспартата, содержащего изотоп ^{15}N, радиоактивная метка была обнаружена в РНК и ДНК разных органов и тканей. Как объяснить результаты этого эксперимента? Для ответа:

а) напишите формулы азотистых оснований, в составе которых окажется метка, и отметьте в них радиоактивный атом;

б) для пиримидиновых нуклеотидов правильность вашего выбора докажите схемой соответствующего метаболического пути.

2. Антибиотик азасерин — структурный аналог глутамина, являющийся мощным ингибитором синтеза пуриновых нуклеотидов, нашел применение в экспериментальных работах. Зная происхождение атомов гетероциклического кольца пурина, определите, какие этапы синтеза пуриновых нуклеотидов будут ингибированы при введении азасерина.

3. У новорожденного на первой неделе жизни обнаружили двустороннюю пневмонию. Внимательно обследовав маленького пациента, врачи выяснили, что он страдает врожденным иммунодефицитом. У больного была снижена скорость дезаминирования адениловых и дезоксиадениловых нуклеотидов. Малышу повезло: врачи вовремя приняли необходимые меры и ввели ему генную конструкцию, содержавшую необходимый ген. Однако большинство детей с подобной генетической патологией погибают в раннем возрасте. Объясните причину высокой смертности детей с такой патологией. Для этого:

а) напишите схемы реакций, скорость которых снижена у данного пациента, и участвующие в них ферменты;

б) укажите вещество, накапливающееся при снижении скорости дезаминирования адениловых нуклеотидов, и фермент, активность которого ингибирует это вещество. Представьте схему реакции, катализируемую этим ферментом;

в) объясните, пролиферация и созревание каких клеток снижается при ингибировании этой реакции и почему.

4. В клинику обратился мужчина с жалобой на острую боль в суставе большого пальца левой ноги, возникшую два дня назад. При осмотре отмечалась отечность плюснефалангового сустава, покраснение и местное повышение температуры. В ходе сбора анамнеза выяснилось, что пациент употребляет много мясной пищи. Биохимический анализ крови показал: содержание мочевой кислоты — 0,51 ммоль/л (норма — 0,17—0,42 ммоль/л). Каков наиболее вероятный диагноз в данном случае и каковы причины возникновения этого заболевания? Для ответа на вопрос:

а) приведите схему синтеза мочевой кислоты;

б) объясните механизм развития указанных симптомов;

в) укажите, какие лечебно-профилактические мероприятия необходимо провести в данном случае;

г) объясните, почему вещество, используемое для лечения указанной патологии, облегчает состояние больного.

5. Молодая мама обнаружила на пеленках своего сына розовые и оранжевые разводы; этот факт удивил женщину, и она решила обратиться в детскую поликлинику. После проведения анализов вердикт педиатров был неутешителен: у малыша обнаружилась тяжелая форма гиперурикемии — синдром Леша-Нихена. Объясните, чем было вызвано данное заболевание. Для ответа на вопрос:

а) представьте схему метаболического пути, при нарушении которого наблюдается синдром Леша-Нихена;

б) напишите реакцию, дефект которой явился причиной данного заболевания; укажите фермент, который ее катализирует;

в) объясните причину появления розовых и оранжевых разводов на пеленках.

6. В процессе лечения подагры аллопуринолом у больного обнаружили накопление оротовой кислоты в тканях и крови. Содержание оротовой кислоты в моче значительно превосходило норму (600 мг/сут). Врач поставил диагноз — оротацидурия. Почему развилась эта патология? Для ответа:

а) укажите, при нарушении какого метаболического пути для лечения используют аллопуринол;

б) вспомните, дефектом какого фермента обмена нуклеотидов вызвана наследственная оротацидурия;

в) объясните, почему в процессе лечения аллопуринолом у больного развилась оротацидурия.

7. У ребенка по результатам анализов на фоне мегалобластной анемии содержание оротовой кислоты в моче составляет более 1 г/сут (в норме синтезируется 600 мг/сут) и отмечено резкое снижение активности фермента УМФ-синтазы. Какое заболевание мы можем диагностировать? Для ответа на вопрос:

а) приведите реакции, которые катализирует бифункциональный фермент УМФ-синтаза;

б) укажите возможные последствия данного заболевания;

в) объясните, почему для лечения этой болезни используют уридин;

г) напишите схему реакции, в которую вовлекается уридин, и опишите механизм действия полученного продукта на метаболизм пиримидинов.

Модуль 11

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА

Структура модуля	Темы
Модульная единица 1	11.1. Роль гормонов в регуляции метаболизма 11.2. Механизмы передачи гормональных сигналов в клетки 11.3. Строение и синтез гормонов 11.4. Регуляция обмена основных энергоносителей при нормальном ритме питания 11.5. Изменение метаболизма при гипо- и гиперсекреции гормонов
Модульная единица 2	11.6. Изменения гормонального статуса и метаболизма при голодании 11.7. Изменения гормонального статуса и метаболизма при сахарном диабете
Модульная единица 3	11.8. Регуляция водно-солевого обмена 11.9. Регуляция обмена кальция и фосфатов. Строение, синтез и механизм действия паратгормона, кальцитриола и кальцитонина

Модульная единица 1
РОЛЬ ГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ, ЛИПИДОВ, АМИНОКИСЛОТ ПРИ НОРМАЛЬНОМ РИТМЕ ПИТАНИЯ

Цели изучения

Уметь:

1. Применять знания о молекулярных механизмах регуляции обмена веществ и функций организма для понимания биохимических основ гомеостаза и адаптации.
2. Использовать знания о механизмах действия гормонов (инсулина и контринсулярных гормонов: глюкагона, кортизола, адреналина, соматотропина, йодтиронинов) для характеристики изменений энергетического обмена при смене периодов пищеварения и постабсорбтивного состояния.
3. Анализировать изменения метаболизма при гипо- и гиперпродукции кортизола и гормона роста, болезнь и синдром Иценко—Кушинга (акромегалия), а также при гипер- и гипофункции щитовидной железы (диффузный токсический зоб, эндемический зоб).

Знать:

1. Современную номенклатуру и классификацию гормонов.
2. Основные этапы передачи гормональных сигналов в клетку.
3. Этапы синтеза и секреции инсулина и основных контринсулярных гормонов.
4. Механизмы поддержания в крови концентрации основных энергоносителей при нормальном ритме питания.

Тема 11.1. РОЛЬ ГОМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА

1. Для нормального функционирования многоклеточного организма необходима взаимосвязь между отдельными клетками, тканями и органами. Эту взаимосвязь осуществляют:

- **нервная система** (центральная и периферическая) через нервные импульсы и нейромедиаторы;
- **эндокринная система** через эндокринные железы и гормоны, которые синтезируются специализированными клетками этих желез, выделяются в кровь и транспортируются к различным органам и тканям;
- **паракринная** и **аутокринная** системы посредством различных соединений, которые секретируются в межклеточное пространство и взаимодействуют с рецепторами либо близлежащих клеток, либо той же клетки (простагландины, гормоны желудочно-кишечного тракта, гистамин и др.);
- **иммунная система** через специфические белки (цитокины, антитела).

2. Эндокринная система обеспечивает регуляцию и интеграцию метаболизма в разных тканях в ответ на изменения условий внешней и внутренней среды. **Гормоны** функционируют как химические посредники, переносящие информацию об этих изменениях в различные органы и ткани. Ответная реакция клетки на действие гормона определяется как химическим строением гормона, так и типом клетки, на которую направлено его действие. Гормоны присутствуют в крови в очень низкой концентрации, и их действие обычно кратковременно.

Это обусловлено, во-первых, регуляцией их синтеза и секреции и, во-вторых, высокой скоростью инактивации циркулирующих гормонов. Основные связи между нервной и эндокринной системами регуляции осуществляются с помощью специальных отделов мозга — гипоталамуса и гипофиза. В системе нейрогуморальной регуляции существует своя иерархия, **вершиной которой является ЦНС** и строгая последовательность протекания процессов.

3. Иерархия регуляторных систем. Системы регуляции обмена веществ и функций организма образуют три иерархических уровня (рис. 11.1).

Первый уровень — центральная нервная система. Нервные клетки получают сигналы, поступающие из внешней и внутренней среды, преобразуют их в форму нервного импульса, который в синапсе вызывает освобождение медиатора. Медиаторы вызывают изменения метаболизма в эффекторных клетках через внутриклеточные механизмы регуляции.

Второй уровень — эндокринная система — включает гипоталамус, гипофиз, периферические эндокринные железы, а также специализированные клетки некоторых органов и тканей (ЖКТ, адипоциты), синтезирующие гормоны и высвобождающие их в кровь при действии соответствующего стимула.

Третий уровень — внутриклеточный — составляют изменения метаболизма в пределах клетки или отдельного метаболического пути, происходящие в результате:

- изменения **активности** ферментов путем активации или ингибирования;
- изменения **количества** ферментов по механизму индукции или репрессии синтеза белков или изменения скорости их деградации;
- изменения **скорости транспорта** веществ через мембраны клеток.

Синтез и секреция гормонов *стимулируется внешними и внутренними* сигналами, поступающими в ЦНС. Эти сигналы по нервным связям поступают в гипоталамус, где стимулируют синтез пептидных гормонов (так называемых рилизинг-гормонов) — либеринов и статинов. **Либерины** и **статины** транспортируются в переднюю долю гипофиза, где стимулируют или тормозят синтез тропных гормонов. Тропные гормоны гипофиза стимулируют синтез и секрецию гормонов периферических эндокринных желез, которые поступают в общий кровоток. Некоторые гипоталамические гормоны сохраняются в задней доле гипофиза, откуда секретируются в кровь (вазопрессин, окситоцин).

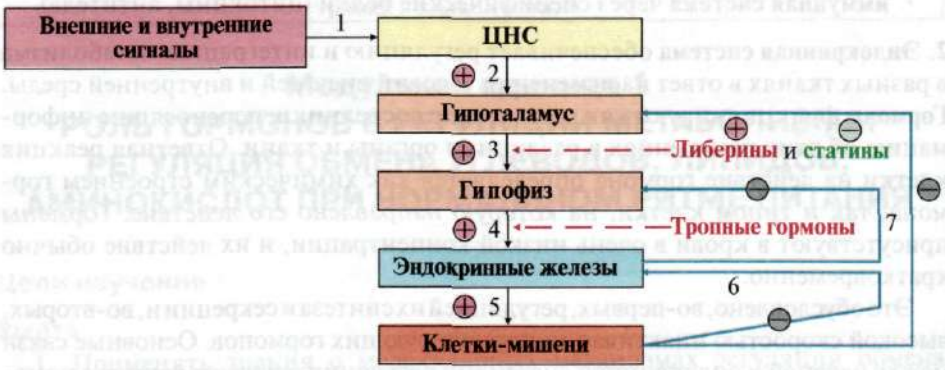


Рис. 11.1 Схема взаимосвязи регуляторных систем организма:

1 — синтез и секреция гормонов стимулируется внешними и внутренними сигналами; 2 — сигналы по нейронам поступают в гипоталамус, где стимулируют синтез и секрецию рилизинг-гормонов; 3 — рилизинг-гормоны стимулируют (либерины) или ингибируют (статины) синтез и секрецию тропных гормонов гипофиза; 4 — тропные гормоны стимулируют синтез и секрецию гормонов периферических эндокринных желез; 5 — гормоны эндокринных желез поступают в кровоток и взаимодействуют с клетками-мишенями; 6 — изменение концентрации метаболитов в клетках-мишенях по механизму отрицательной обратной связи подавляет синтез гормонов эндокринных желез; 7 — синтез и секреция тропных гормонов подавляется гормонами эндокринных желез; ⊕ — стимуляция синтеза и секреции гормонов; ⊖ — подавление синтеза и секреции гормонов (отрицательная обратная связь)

Изменение концентрации метаболитов в клетках-мишенях по механизму отрицательной обратной связи подавляет синтез гормонов, действуя либо на эндокринные железы, либо на гипоталамус; синтез и секреция тропных гормонов подавляется гормонами периферических желез.

ТЕМА 11.2. МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕДАЧИ ГОРМОНАЛЬНЫХ СИГНАЛОВ В КЛЕТКИ

Биологическое действие гормонов проявляется через их взаимодействие с клетками, имеющими рецепторы к данному гормону **(клетками-мишенями)**. Для проявления биологической активности связывание гормона с рецептором должно приводить к образованию химического сигнала внутри клетки, который вызывает специфический биологический ответ, например, изменение скорости синтеза ферментов и других белков или изменение их активности (см. модуль 4). Мишенью для гормона могут служить клетки одной или нескольких тканей. Воздействуя на клетку-мишень, гормон вызывает специфическую ответную реакцию, проявление которой зависит от того, какие метаболические пути активируются или тормозятся в этой клетке. Например, щитовидная железа — специфическая мишень для тиреотропина, под действием которого увеличивается количество ацинарных клеток щитовидной железы, повышается скорость биосинтеза тиреоидных гормонов. Глюкагон, воздействуя на адипоциты, активирует липолиз, в печени стимулирует мобилизацию гликогена и глюконеогенез.

- **Рецепторы** гормонов могут быть расположены или в плазматической мембране или внутри клетки (в цитозоле или ядре).
- **По механизму действия** гормоны можно разделить на две группы:
  - к **первой** группе относятся гормоны, взаимодействующие с **мембранными рецепторами** (пептидные гормоны, адреналин, а также гормоны местного действия — цитокины, эйкозаноиды);
  - **вторая** группа включает гормоны, взаимодействующие с **внутриклеточными рецепторами** — стероидные гормоны, тироксин (см. модуль 4).

Связывание гормона (первичного мессенджера) с рецептором приводит к изменению конформации рецептора. Эти изменения улавливается другими макромолекулами, т.е. связывание гормона с рецептором приводит к сопряжению одних молекул с другими (трансдукция сигнала). Таким образом, генерируется сигнал, который регулирует клеточный ответ. В зависимости от способа передачи гормонального сигнала скорость реакций метаболизма в клетках меняется:

- в результате изменения активности ферментов;
- в результате изменения количества ферментов (рис. 11.2).

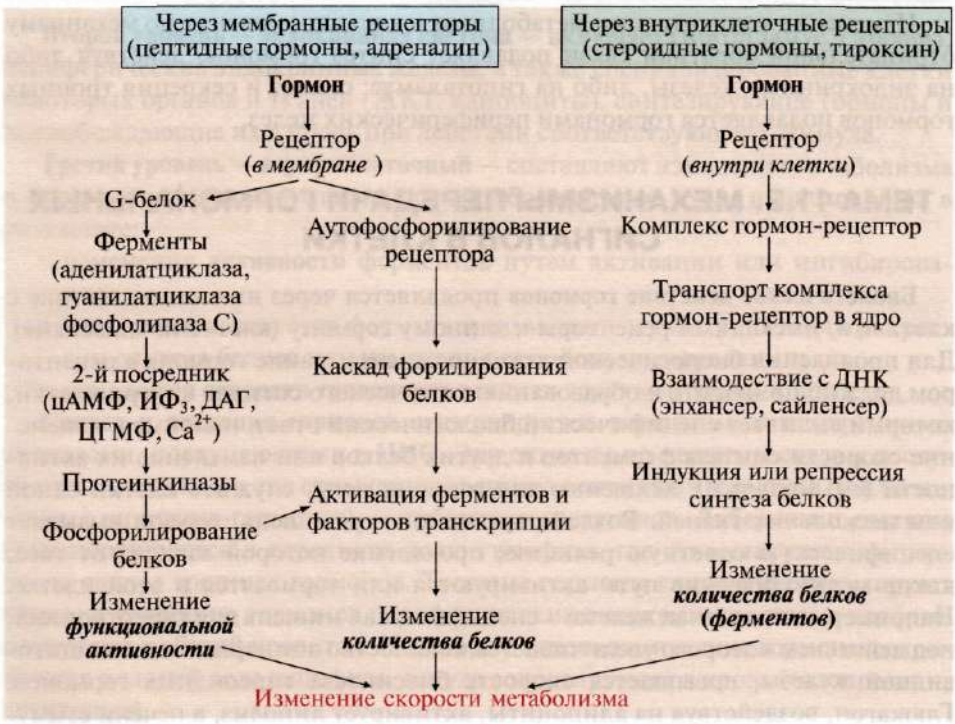


Рис. 11.2. Основные этапы передачи гормональных сигналов в клетки-мишени

ТЕМА 11.3. СТРОЕНИЕ И БИОСИНТЕЗ ГОРМОНОВ

1. Пептидные гормоны синтезируются, как и другие белки, в процессе трансляции из аминокислот. Некоторые пептидные гормоны — это короткие пептиды; например, гормон гипоталамуса тиреотропин — либерин — трипептид. Большинство гормонов передней доли гипофиза — гликопротеины.

Некоторые пептидные гормоны являются продуктами общего гена (рис. 11.3). Большинство полипептидных гормонов синтезируется в виде неактивных предшественников — препрогормонов. Образование активных гормонов происходит путем частичного протеолиза.

2. Инсулин — полипептид, состоящий из двух полипептидных цепей. Цепь А содержит 21 аминокислотный остаток, цепь В — 30 аминокислотных остатков. Обе цепи соединены между собой двумя дисульфидными мостиками. Молекула инсулина содержит также внутримолекулярный дисульфидный мостик в А-цепи.

Биосинтез инсулина начинается с образования неактивных предшественников, препроинсулина и проинсулина, которые в результате последовательного протеолиза превращаются в активный гормон. Биосинтез препроинсулина начинается с образования сигнального пептида на полирибосомах, связанных с эндоплазматическим ретикулумом. Сигнальный

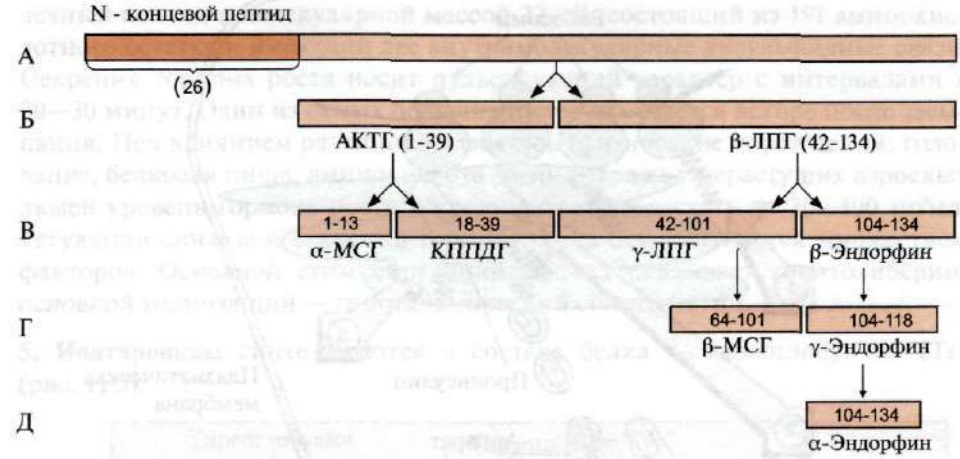


Рис. 11.3. Образование пептидных гормонов, являющихся продуктами общего гена:

А — ПОМК (проопиомеланокортин) синтезируется в передней и промежуточной долях гипофиза и в некоторых других тканях (кишечнике, плаценте). Полипептидная цепь состоит из 265 аминокислотных остатков; Б — после отщепления N-концевого сигнального пептида полипептидная цепь расщепляется на два фрагмента: АКТГ (39 а.к.) и β–липотропин (42—134 а.к.); В, Г, Д — при дальнейшем протеолизе происходит образование α- и β-МСГ (Меланоцитстимулирующего гормона) и эндорфинов. КППДГ — кортикотропиноподобный гормон промежуточной доли гипофиза. Процессинг ПОМК в передней и промежуточной долях гипофиза протекает по-разному, с образованием разного набора пептидов

пептид проникает в просвет эндоплазматического ретикулума и направляет в ЭР растущую полипептидную цепь. После окончания синтеза препроинсулина сигнальный пептид отщепляется (рис. 11.4).

Проинсулин (86 аминокислотных остатков) поступает в аппарат Гольджи, где под действием специфических протеаз расщепляется в нескольких участках с образованием инсулина (51 аминокислотный остаток) и С-пептида, состоящего из 31 аминокислотного остатка. Инсулин и С-пептид в эквимолярных количествах включаются в секреторные гранулы. В гранулах инсулин соединяется с цинком, образуя димеры и гексамеры. Зрелые гранулы сливаются с плазматической мембраной, и инсулин и С-пептид секретируются во внеклеточную жидкость в результате экзоцитоза. После секреции в кровь олигомеры инсулина распадаются. Период полураспада инсулина в плазме крови составляет 3—10 минут, С-пептида — около 30 минут. Деградация инсулина происходит под действием фермента инсулиназы в основном в печени и в меньшей степени — в почках.

Главным стимулятором синтеза и секреции инсулина является глюкоза. Секреция инсулина усиливается также некоторыми аминокислотами (особенно аргинином и лизином), кетоновыми телами и жирными кислотами. Адреналин, соматостатин и некоторые пептиды ЖКТ тормозят секрецию инсулина.

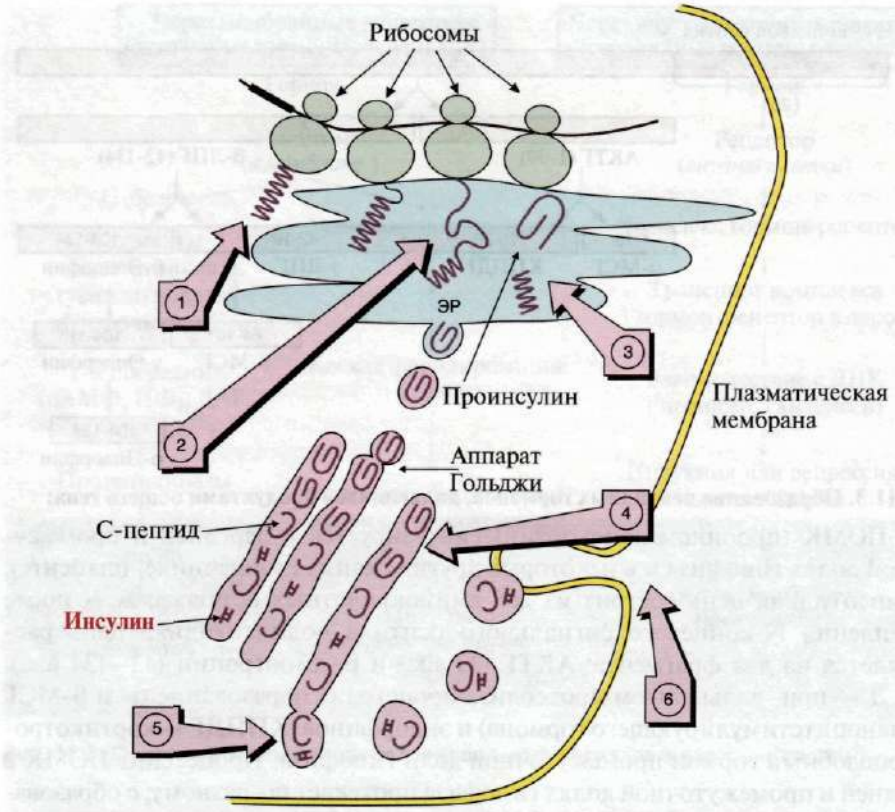


Рис. 11.4. Схема биосинтеза инсулина в клетках поджелудочной железы:

1 — синтез полипептидной цепи проинсулина; 2 — синтез происходит на полирибосомах, прикрепленных к наружной поверхности мембраны ЭР; 3 — сигнальный пептид отщепляется о завершении синтеза полипептидной цепи и образуется проинсулин; 4 — проинсулин транспортируется из ЭР в аппарат Гольджи и расщепляется на инсулин и С-пептид; 5 — инсулин и С-пептид включаются в секреторные гранулы и выделяются путем экзоцитоза (6); ЭР — эндоплазматический ретикулум; N — концевая часть молекулы;

3. Глюкагон – одноцепочечный полипептид, состоящий из 29 аминокислотных остатков. Биосинтез глюкагона происходит в α-клетках островков Лангерганса из неактивного предшественника препроглюкагона, который в результате частичного протеолиза превращается в активный гормон. Глюкоза и инсулин подавляют секрецию глюкагона; многие соединения, включая аминокислоты, жирные кислоты, нейромедиаторы (адреналин), ее стимулируют. Период полураспада гормона составляет ≈5 минут. В печени глюкагон быстро разрушается под действием специфических протеаз.

4. Соматотропин синтезируется в виде прогормона в соматотрофных клетках, которые являются наиболее многочисленными в передней доле гипофиза. Гормон роста у всех видов млекопитающих представляет собой одноцепо-

чечный пептид с молекулярной массой 22 кД, состоящий из 191 аминокислотного остатка и имеющий две внутримолекулярные дисульфидные связи. Секреция гормона роста носит пульсирующий характер с интервалами в 20—30 минут. Один из самых больших пиков отмечается вскоре после засыпания. Под влиянием различных стимулов (физические упражнения, голодание, белковая пища, аминокислота аргинин) даже у нерастущих взрослых людей уровень гормона роста в крови может возрастать до 30—100 нг/мл. Регуляция синтеза и секреции гормона роста осуществляется множеством факторов. Основной стимулирующий эффект оказывает соматолиберин, основной тормозящий — гипоталамический соматостатин.

5. Иодтиронины синтезируются в составе белка — тиреоглобулина (Тг) (рис. 11.5).

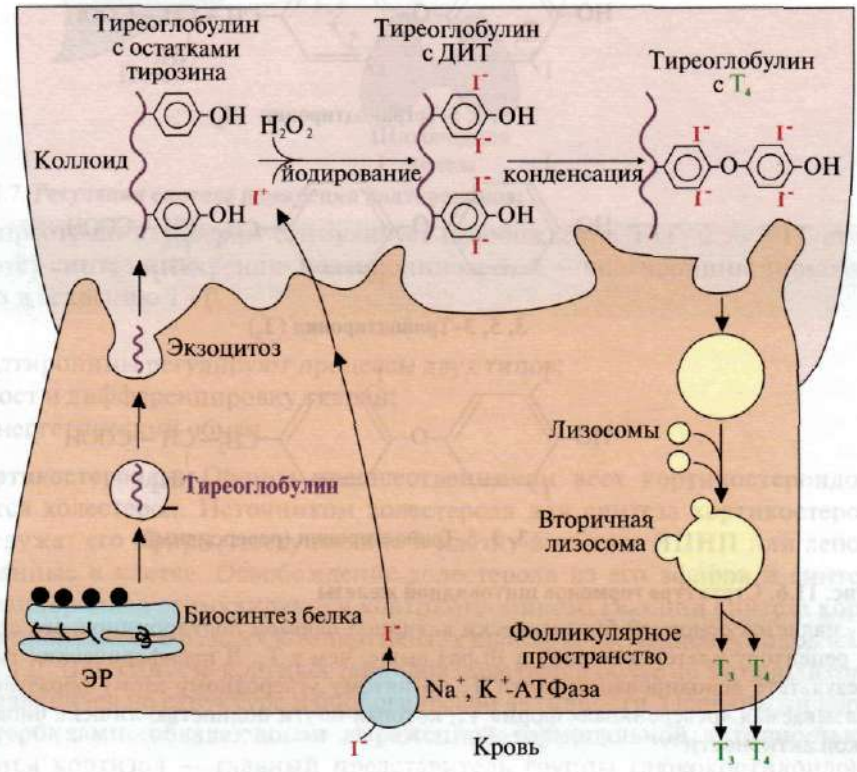
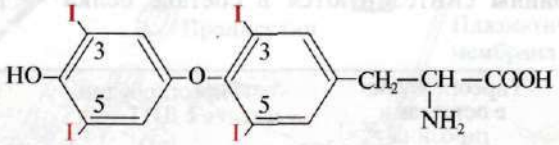


Рис. 11.5. Синтез йодтиронинов:

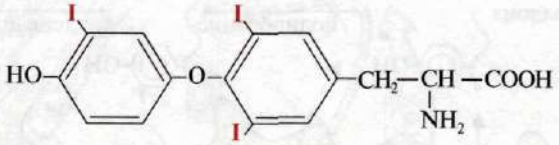
ЭР — эндоплазматический ретикулум; ДИТ — дийодтиронин; Тг — тиреоглобулин; T_3 — трийодтиронин, T_4 — тироксин. Тиреоглобулин синтезируется на рибосомах, далее поступает в комплекс Гольджи, а затем во внеклеточный коллоид, где он хранится и где происходит иодирование остатков тирозина. Образование йодтиронинов происходит в несколько этапов: транспорт иода в клетки щитовидной железы, окисление йода, йодирование остатков тирозина, образование йодтиронинов, транспорт йодтиронинов в кровь

Тиреоглобулин — гликопротеин, содержит 115 остатков тирозина, синтезируется в базальной части клетки и хранится во внеклеточном коллоиде, где происходит йодирование остатков тирозина и образование йодтиронинов.

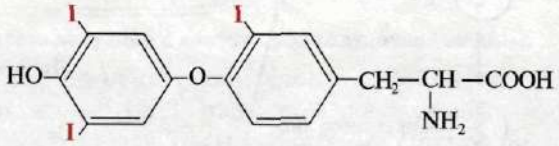
Под действием **тиреопероксидазы** окисленный йод реагирует с остатками тирозина с образованием моноиодтиронинов (МИТ) и дийодтиронинов (ДИТ). Две молекулы ДИТ конденсируются с образованием T_4, а МИТ и ДИТ — с образованием T_3. Йодтиреоглобулин транспортируется в клетку путем эндоцитоза и гидролизуется ферментами лизосом с освобождением T_3 и T_4 (рис. 11.6).



3, 5, 3, 5-Тетрайодтиронин (T_4)



3, 5, 3-Трийодтиронин (T_3)



3, 3, 5-Трийодтиронин (реверсивный)

Рис. 11.6. Структура гормонов щитовидной железы

T_3 является основной биологически активной формой йодтиронинов; его сродство к рецептору клеток-мишеней в 10 раз выше, чем у T_4. В периферических тканях в результате дейодирования части T_4 по пятому углеродному атому образуется так называемая «реверсивная» форма T_3, которая почти полностью лишена биологической активности

В крови йодтиронины находятся в связанной форме в комплексе с тироксинсвязывающим белком. Только 0,03% T_4 и 0,3% T_3 находятся в свободном состоянии. Биологическая активность йодтиронинов обусловлена несвязанной фракцией. Транспортные белки служат своеобразным депо, которое может обеспечить дополнительное количество свободных гормонов. Синтез и секреция иодтиронинов регулируется гипоталамо-гипофизарной системой (рис. 11.7).

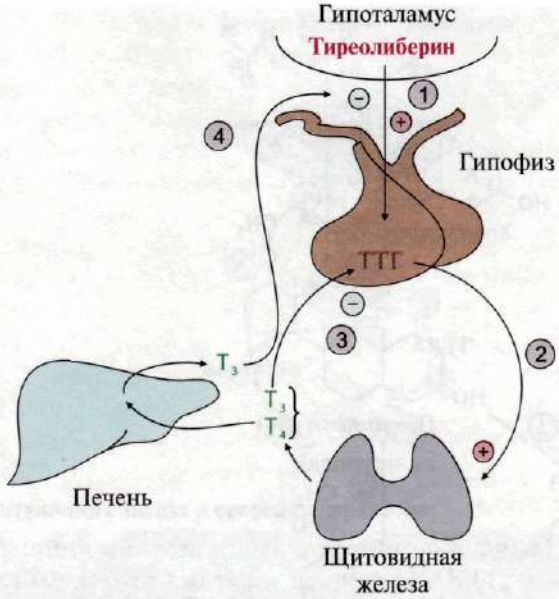


Рис. 11.7. Регуляция синтеза и секреции йодтиронинов:

1 — тиреотропин-либерин стимулирует освобождение ТТГ; 2 — ТТГ стимулирует синтез и секрецию йодтиронинов; 3, 4 — иодтиронины тормозят синтез и секрецию ТТГ

Йодтиронины регулируют процессы двух типов:

- рост и дифференцировку тканей;
- энергетический обмен.

6. Кортикостероиды. Общим предшественником всех кортикостероидов является холестерол. Источником холестерола для синтеза кортикостероидов служат его эфиры, поступающие в клетку в составе ЛПНП или депонированные в клетке. Освобождение холестерола из его эфиров и синтез кортикостероидов стимулируются кортикотропином. Реакции синтеза кортизола происходят в разных компартментах клеток коры надпочечников (см. рис. 11.12). При синтезе кортикостероидов образуется более 40 метаболитов, различающихся по структуре и биологической активности. Основными кортикостероидами, обладающими выраженной гормональной активностью, являются кортизол — главный представитель группы глюкокортикоидов, альдостерон — основной минералокортикоид и андрогены.

На первом этапе синтеза кортикостероидов происходит превращение холестерола в прегненолон путем отщепления 6-углеродного фрагмента от боковой цепи холестерола и окисления углеродного атома C_{20}. Прегненолон превращается в прогестерон — C_{21} предшественник стероидов — кортизола и альдостерона — и стероиды C_{19} — предшественники андрогенов. Каким именно стероидом окажется конечный продукт, зависит от набора ферментов в клетке и последовательности реакций гидроксилирования (рис. 11.8).

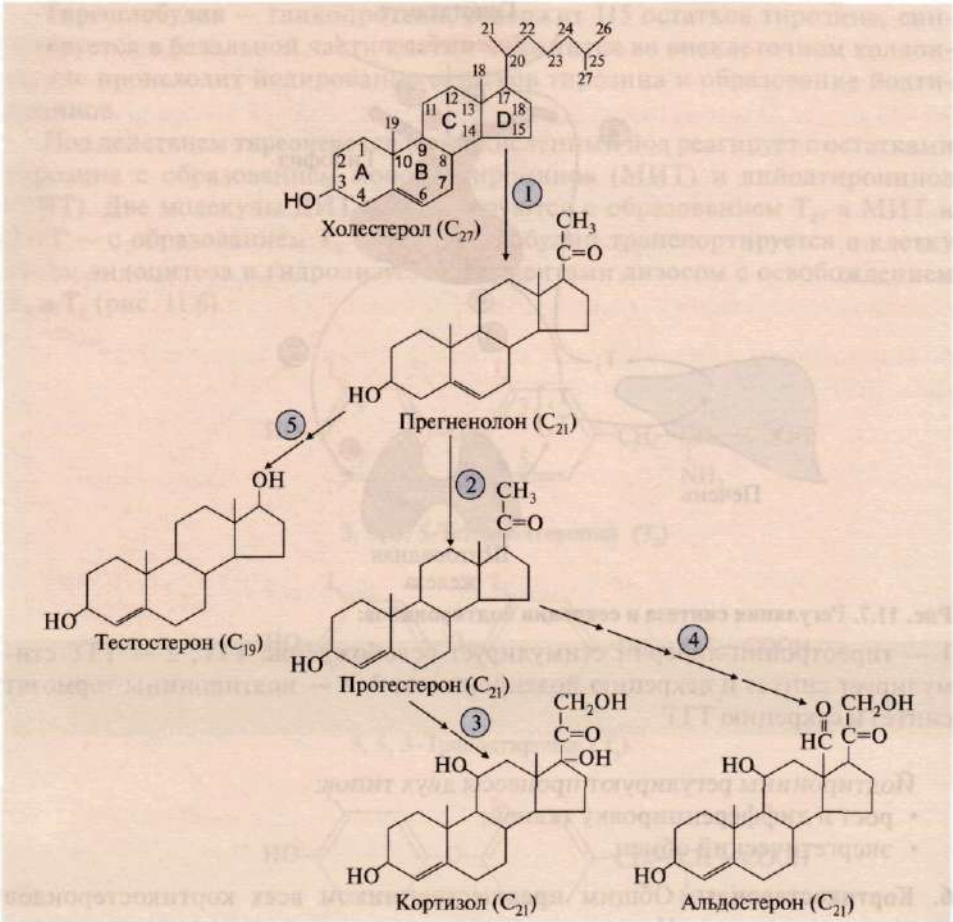


Рис. 11.8. Синтез основных кортикостероидов:

1 — превращение холестерола в прегненолон; 2 — образование прогестерона; 3 –гидроксилирование прогестерона (17—21—11) и образование кортизола; 4 — гидроксилирование прогестерона (21—11) и образование альдостерона; 5 — путь синтеза андрогенов

Первичное гидроксилирование прогестерона 17-гидроксилазой, а затем 21- и 11-гидроксилазой приводит к синтезу кортизола. Реакции образования альдостерона включают гидроксилирование прогестерона сначала 21-гидроксилазой, а затем 11-гидроксилазой (см. рис. 11.8). Скорость синтеза и секреции кортизола регулируется гипоталамо-гипофизарной системой по механизму обратной отрицательной связи (рис. 11.9).

Стероидные гормоны транспортируются кровью в комплексе со специфическими транспортными белками.

Катаболизм гормонов коры надпочечников происходит прежде всего в печени. Здесь протекают реакции гидроксилирования, окисления и

Рис. 11.9. Регуляция синтеза и секреции кортизола:

1 — стимуляция синтеза кортикотропин-либерина; 2 — кортикотропин-либерин стимулирует синтез и секрецию АКТГ; 3 — АКТГ стимулирует синтез и секрецию кортизола; 4 — кортизол тормозит секрецию АКТГ и кортиколиберина

восстановления гормонов. Продукты катаболизма кортикостероидов (кроме кортикостерона и альдостерона) выводятся с мочой в форме **17-кетостероидов**. Эти продукты метаболизма выделяются преимущественно в виде конъюгатов с глюкуроновой и серной кислотами. У мужчин 2/3 кетостероидов образуется за счет кортикостероидов и 1/3 — за счет тестостерона (всего 12—17 мг в сутки). У женщин 17-кетостероиды образуются преимущественно за счет кортикостероидов (7—12 мг в сутки).

ТЕМА 11.4. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ОСНОВНЫХ ЭНЕРГОНОСИТЕЛЕЙ ПРИ НОРМАЛЬНОМ РИТМЕ ПИТАНИЯ

1. Энергетическая ценность основных пищевых веществ выражается в килокалориях и составляет: для углеводов — 4 ккал/г, для жиров — 9 ккал/г, для белков — 4 ккал/г. Взрослому здоровому человеку в сутки требуется 2000—3000 ккал (8000—12 000 кДж) энергии.

При обычном ритме питания промежутки между приемами пищи составляют 4—5 часов с 8—12-часовым ночным перерывом. В течение пищеварения и **абсорбтивного периода** (2—4 часа) основные энергоносители, используемые тканями (глюкоза, жирные кислоты, аминокислоты), могут поступать в кровь непосредственно из пищеварительного тракта. В **постабсорбтивном периоде** (промежуток времени после завершения пищеварения до следующего приема пищи) и при голодании энергетические субстраты образуются

в процессе катаболизма депонированных энергоносителей. Основную роль в регуляции этих процессов играют **инсулин** и **глюкагон**. Антагонистами инсулина являются также **адреналин, кортизол, иодтиронины и соматотропин** (так называемые контринсулярные гормоны).

Инсулин и контринсулярные гормоны обеспечивают баланс между потребностями и возможностями организма в получении энергии, необходимой для нормального функционирования и роста. Этот баланс определяется как **энергетический гомеостаз**. При нормальном ритме питания концентрация глюкозы в крови поддерживается на уровне 65—110 мг/дл (3,58—6,05 ммоль/л) благодаря влиянию двух основных гормонов — инсулина и глюкагона. Инсулин и глюкагон — главные регуляторы метаболизма при смене состояний пищеварения, постабсорбтивного периода и голодания. На периоды пищеварения приходится 10—15 час в сутки, а расход энергии происходит в течение 24 часов. Поэтому часть энергоносителей во время пищеварения запасается для использования в постабсорбтивном периоде.

Печень, жировая ткань и мышцы — главные органы, обеспечивающие изменения метаболизма в соответствии с ритмом питания. Режим запасания включается после приема пищи и сменяется режимом мобилизации запасов после завершения абсорбтивного периода.

2. Изменения метаболизма основных энергоносителей в абсорбтивном периоде обусловлены, в основном, высоким **инсулин-глюкагоновым** индексом (рис. 11.10).

Изменения метаболизма в печени. В печени увеличивается потребление глюкозы, что является следствием ускорения метаболических путей, в которых глюкоза превращается в депонируемые формы энергоносителей: **гликоген** и **жиры**.

При повышении концентрации глюкозы в гепатоцитах происходит активация глюкокиназы, превращающей глюкозу в глюкозо-6-фосфат. Кроме этого, инсулин индуцирует синтез мРНК глюкокиназы. В результате повышается концентрация глюкозо-6-фосфата в гепатоцитах, что обусловливает ускорение **синтеза гликогена**. Этому также способствует одновременная инактивация гликогенфосфорилазы и активация гликогенсинтазы. Под влиянием инсулина в гепатоцитах **ускоряется гликолиз** в результате повышения активности и количества ключевых ферментов: глюкокиназы, фосфофруктокиназы и пируваткиназы. В то же время происходит торможение глюконеогенеза в результате инактивации фруктозо-1,6-бисфосфатазы и репрессии инсулином синтеза фосфоенолпируваткарбоксикиназы — ключевых ферментов глюконеогенеза (см. модуль 6).

Повышение концентрации глюкозо-6-фосфата в гепатоцитах в абсорбтивном периоде сочетается с активным использованием NADPH для синтеза жирных кислот, что способствует стимуляции **пентозофосфатного пути**.

Ускорение синтеза жирных кислот обеспечивается доступностью субстратов (ацетил-КоА и NADPH), образующихся при метаболизме глюкозы, а также активацией и индукцией ключевых ферментов синтеза жирных кислот инсулином.

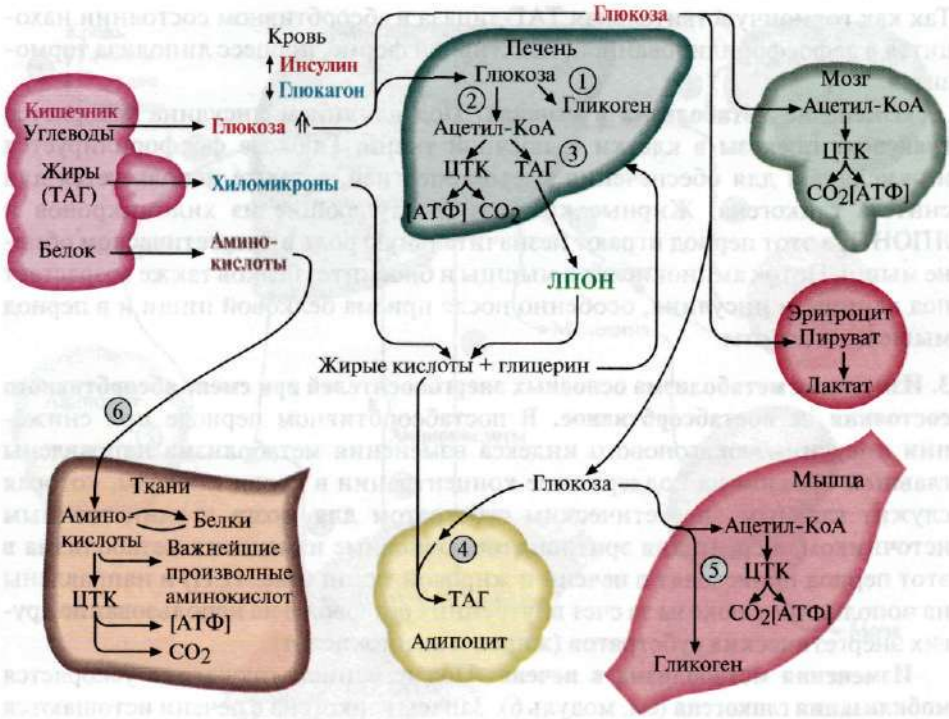


Рис. 11.10. Пути использования основных энергоносителей в абсорбтивном периоде:

1 — биосинтез гликогена в печени; 2 — гликолиз; 3 — биосинтез ТАГ в печени; 4 — биосинтез ТАГ в жировой ткани; 5 — биосинтез гликогена в мышцах; 6 — биосинтез белков в разных тканях, в том числе в печени; ЖК — жирные кислоты

Аминокислоты, поступающие в печень из пищеварительного тракта, используются для синтеза белков и других азотсодержащих соединений, а их излишек либо поступает в кровь и транспортируется в другие ткани, либо дезаминируется с последующим включением безазотистых остатков в общий путь катаболизма (см. модуль 9).

Изменения метаболизма в адипоцитах. Основная функция жировой ткани — запасание энергоносителей в форме **триацилглицеролов**. Под влиянием инсулина ускоряется **транспорт глюкозы** в адипоциты. Повышение внутриклеточной концентрации глюкозы и активация ключевых ферментов гликолиза обеспечивают образование ацетил-КоА и глицерол-3-фосфата, необходимых для синтеза ТАГ. Стимуляция пентозофосфатного пути обеспечивает образование NADPH, необходимого для синтеза жирных кислот. Однако биосинтез жирных кислот de novo в жировой ткани человека протекает с высокой скоростью только после предшествующего голодания. При нормальном ритме питания для синтеза ТАГ используются в основном жирные кислоты, поступающие из хиломикронов и ЛПОНП под действием ЛП-липазы (см. модуль 8).

Так как гормончувствительная ТАГ-липаза в абсорбтивном состоянии находится в дефосфорилированной, неактивной форме, процесс липолиза тормозится.

Изменение метаболизма в мышцах. Под влиянием инсулина ускоряется **транспорт глюкозы** в клетки мышечной ткани. Глюкоза фосфорилируется и окисляется для обеспечения клеток энергией, а также используется для синтеза гликогена. Жирные кислоты, поступающие из хиломикронов и ЛПОНП, в этот период играют незначительную роль в энергетическом обмене мышц. Поток аминокислот в мышцы и биосинтез белков также возрастает под влиянием инсулина, особенно после приема белковой пищи и в период мышечной работы.

3. Изменения метаболизма основных энергоносителей при смене абсорбтивного состояния на постабсорбтивное. В постабсорбтивном периоде при снижении инсулин-глюкагонового индекса изменения метаболизма направлены главным образом на поддержание концентрации в крови глюкозы, которая служит главным энергетическим субстратом для мозга и единственным источником энергии для эритроцитов. Основные изменения метаболизма в этот период происходят в печени и жировой ткани (рис. 11.11) и направлены на пополнение глюкозы за счет внутренних резервов и на использование других энергетических субстратов (жиров и аминокислот).

Изменения метаболизма в печени. Под влиянием глюкагона ускоряется **мобилизация гликогена** (см. модуль 6). Запасы гликогена в печени истощаются в течение 18—24-часового голодания. Главным источником глюкозы по мере исчерпания запасов гликогена становится **глюконеогенез**, который начинает ускоряться через 4—6 часов после последнего приема пищи. Субстратами для синтеза глюкозы служат **лактат, глицерол** и **аминокислоты**. Скорость синтеза жирных кислот снижается вследствие фосфорилирования и инактивации ацетил-КоА-карбоксилазы при фосфорилировании, а скорость β-окисления возрастает. Вместе с тем увеличивается снабжение печени жирными кислотами, которые транспортируются из жировых депо в результате ускорения липолиза. Ацетил-КоА, образующийся при окислении жирных кислот, используется в печени для **синтеза кетоновых тел**.

В жировой ткани снижается скорость синтеза ТАГ и стимулируется липолиз. Стимуляция липолиза является результатом активации гормончувствительной ТАГ-липазы адипоцитов под влиянием глюкагона. Жирные кислоты становятся важными источниками энергиии в печени, мышцах и жировой ткани.

Таким образом, в постабсорбтивном периоде концентрация глюкозы в крови поддерживается на уровне 60—100 мг/дл (3,5—5,5 ммоль/л), а уровень жирных кислот и кетоновых тел возрастает.

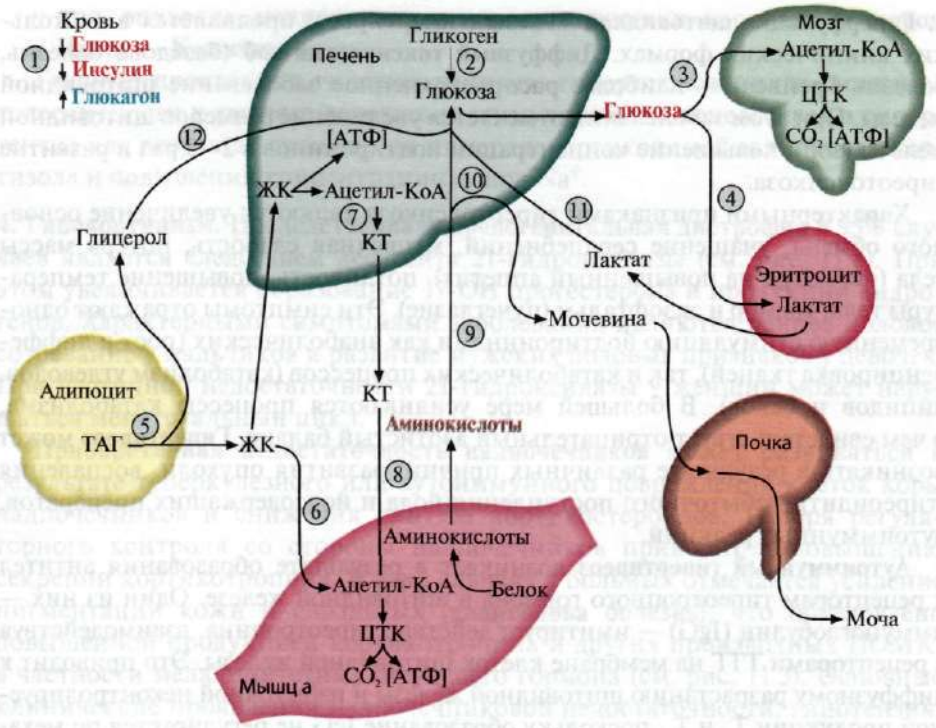


Рис. 11.11. Пути использования основных энергоносителей при смене абсорбтивного состояния на постабсорбтивное:

1 — снижение инсулин-глюкагонового индекса; 2 — распад гликогена; 3, 4 — транспорт глюкозы в мозг и эритроциты; 5 — катаболизм жиров; 6 — транспорт жиров в печень и мышцы; 7 — синтез кетоновых тел в печени; 8 — транспорт кетоновых тел в мышцы; 9 — глюконеогенез из аминокислот; 10 — синтез и выведение мочевины; 11 — транспорт лактата в печень и включение в глюконеогенез; 12 — глюконеогенез из глицерола; КТ –кетоновые тела; ЖК — жирные кислоты

ТЕМА 11.5. ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ГИПО- И ГИПЕРСЕКРЕЦИИ ГОРМОНОВ

Изменение скорости синтеза и секреции гормонов может происходить не только как адаптационный процесс, возникающий в ответ на изменение физиологической активности организма, но часто является результатом нарушений функциональной активности эндокринных желез при развитии в них патологических процессов или нарушений регуляции. Эти нарушения могут проявляться либо в форме **гипофункции**, приводящей к снижению количества гормона, либо **гиперфункции**, сопровождающейся избыточным его синтезом.

1. Гиперфункция щитовидной железы (гипертиреоз) проявляется в нескольких клинических формах. **Диффузный токсический зоб** (базедова болезнь, болезнь Грейвса) — наиболее распространенное заболевание щитовидной железы. При этом заболевании отмечается увеличение размеров щитовидной железы (зоб), повышение концентрации йодтиронинов в 2—5 раз и развитие тиреотоксикоза.

Характерными признаками тиреотоксикоза являются увеличение основного обмена, учащение сердцебиений, мышечная слабость, потеря массы тела (несмотря на повышенный аппетит), потливость, повышение температуры тела, тремор и экзофтальм (пучеглазие). Эти симптомы отражают одновременную стимуляцию йодтиронинами как анаболических (рост и дифференцировка тканей), так и катаболических процессов (катаболизм углеводов, липидов и беков). В большей мере усиливаются процессы катаболизма, о чем свидетельствует отрицательный азотистый баланс. **Гипертиреоз** может возникать в результате различных причин: развития опухоли, воспаления (тиреоидит), избыточного поступления йода и йодсодержащих препаратов, аутоиммунных реакций.

Аутоиммунный гипертиреоз возникает в результате образования антител к рецепторам тиреотропного гормона в щитовидной железе. Один из них — иммуноглобулин (IgG) — имитирует действие тиреотропина, взаимодействуя с рецепторами ТТГ на мембране клеток щитовидной железы. Это приводит к диффузному разрастанию щитовидной железы и избыточной неконтролируемой продукции T_3 и T_4, поскольку образование IgG не регулируется по механизму обратной связи. Уровень ТТГ при этом заболевании снижен вследствие подавления функции гипофиза высокими концентрациями йодтиронинов.

2. Гипотиреоз может быть результатом недостаточного поступления йода в организм — эндемического зоба. Реже гипотиреоз возникает в результате врожденных дефектов ферментов, участвующих в синтезе (например, тиреопероксиразы) йодтиронинов, или как осложнение других болезней, при которых повреждаются гипоталамус, гипофиз или щитовидная железа. При некоторых формах гипотиреоза в крови обнаруживаются антитела к тиреоглобулину. Гипофункция щитовидной железы в раннем детском возрасте приводит к задержке физического и умственного развития — **кретинизм**. У взрослых гипофункция проявляется как **микседему** (слизистый отек). Главным проявлением микседемы является избыточное накопление в коже протеогликанов и воды. Основные симптомы гипотиреоза: сонливость, снижение толерантности к холоду, увеличение массы тела, снижение температуры тела.

3. Гиперкортицизм. Избыточное образование кортикостероидов, главным образом кортизола, — **гиперкортицизм** — часто является результатом нарушения регуляторных механизмов синтеза кортизола:

- при опухоли гипофиза и повышенной продукции кортикотропина (болезнь Иценко—Кушинга);

- при опухолях надпочечников, продуцирующих кортизол (**синдром Иценко—Кушинга**).

Главные проявления гиперкортицизма: гиперглюкоземия и снижение толерантности к глюкозе вследствие стимуляции глюконеогенеза и гипертензия как результат проявления минералокортикоидной активности кортизола и повышения концентрации ионов Na^+.

4. Гипокортицизм. Наследственная адреногенитальная дистрофия в 95% случаев является следствием дефицита 21-гидроксилазы (см. рис. 11.8). При этом увеличивается образование 17-ОН прогестерона и продукции андрогенов. Характерными симптомами заболевания являются раннее половое созревание у мальчиков и развитие мужских половых признаков у девочек. При частичной недостаточности 21-гидроксилазы у женщин может нарушаться менструальный цикл.

Приобретенная недостаточность надпочечников может развиваться в результате туберкулезного или аутоиммунного повреждения клеток коры надпочечников и снижения синтеза кортикостероидов. Потеря регуляторного контроля со стороны надпочечников приводит к повышению секреции кортикотропина. В этих случаях у больных отмечается усиление пигментации кожи и слизистых (**аддисонова болезнь**), что обусловлено повышенной продукцией кортикотропина и других производных ПОМК, в частности меланоцитстимулирующего гормона (см. рис. 11.3). Основные клинические проявления надпочечниковой недостаточности: гипотензия, мышечная слабость, гипонатриемия, потеря массы тела, непереносимость стресса.

Недостаточность функции коры надпочечников часто является следствием длительного применения кортикостероидных препаратов, подавляющих синтез кортикотропина по механизму обратной связи. Отсутствие стимулирующих сигналов приводит к атрофии клеток коры надпочечников. При резкой отмене гормональных препаратов может развиться острая надпочечниковая недостаточность (так называемый синдром «отмены»), которая представляет большую угрозу для жизни, так как сопровождается декомпенсацией всех видов обмена и процессов адаптации. Она проявляется сосудистым коллапсом, резкой адинамией, потерей сознания. Такое состояние возникает вследствие нарушения обмена электролитов, которое приводит к потере ионов Na^+ и Cl^- с мочой и обезвоживанию за счет потери внеклеточной жидкости. Изменение углеводного обмена проявляется в снижении уровня сахара в крови, уменьшении запаса гликогена в печени и скелетных мышцах.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Перенесите в тетрадь и заполните табл. 11.1.

Таблица 11.1. Инсулин и основные контринсулярные гормоны

Гормон	Строение и место синтеза	Стимул секреции	Клетки (органы)-мишени	Механизм передачи гормонального сигнала	Изменение метаболизма в клетках-мишенях
Инсулин					
Глюкагон					
Кортизол					
Адреналин					
Соматотропин					
Йодтиронины					

2. Используя рис. 11.4, выпишите этапы синтеза инсулина. Объясните, какие причины могут привести к развитию инсулиновой недостаточности? Почему в этих случаях с целью диагностики можно определять в крови концентрацию С-пептида?

3. Изучите схему синтеза йодтиронинов (рис. 11.5). Опишите основные этапы их синтеза и нарисуйте схему регуляции синтеза и секреции тиреоидных гормонов. Объясните основные проявления гипо- и гипертиреоза. Почему при применении тироксина как лекарства необходим постоянный контроль уровня ТТГ в крови?

4. Изучите последовательность этапов синтеза кортизола (рис. 11.8). Найдите на схеме этапы, катализируемые ферментами, дефект которых является причиной возникновения адреногенитального синдрома.

5. Опишите схему внутриклеточного цикла синтеза кортизола начиная с взаимодействия АКТГ с рецептором (рис. 11.12), заменив цифры названиями участвующих в них белков.

6. Нарисуйте схему регуляции синтеза и секреции кортикостероидов. Объясните причины и проявления синдрома отмены стероидных препаратов.

7. Опишите последовательность событий, которые приводят к повышению *концентрации глюкозы в крови в течение первого часа после приема пищи и* ее последующему возвращению к исходному уровню в течение 2 часов (рис. 11.13). Объясните роль гормонов в этих событиях.

8. Проанализируйте изменения гормонального статуса и метаболизма в печени, жировой ткани и мышцах в абсорбтивном (рис. 11.10) и постабсорбтивном периодах (рис. 11.11). Назовите процессы, обозначенные цифрами. Укажите регуляторные ферменты и механизм изменения их активности, учитывая, что первичным сигналом для стимуляции этих процессов является изменение концентрации глюкозы в крови и реципрокные изменения концентрации инсулина и глюкагона (рис. 11.11).

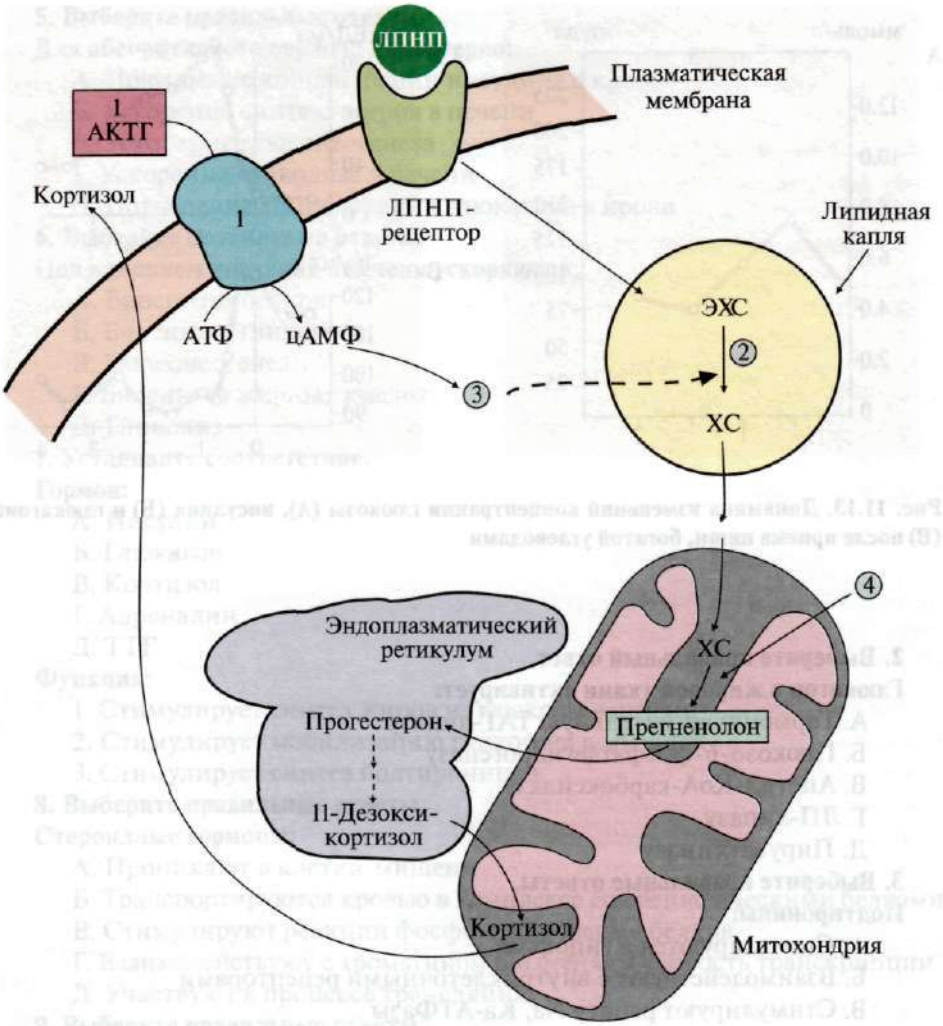


Рис. 11.12. Внутриклеточный цикл синтеза кортизола:
ЭХС — эфиры холестерола; ХС — холестерол

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

Гормоны:

А. Проявляют свои эффекты через взаимодействие с рецепторами
Б. Синтезируются в задней доле гипофиза
В. Измененяют активность ферментов путем частичного протеолиза
Г. Индуцируют синтез ферментов в клетках-мишенях
Д. Синтез и секреция регулируется по механизму обратной связи

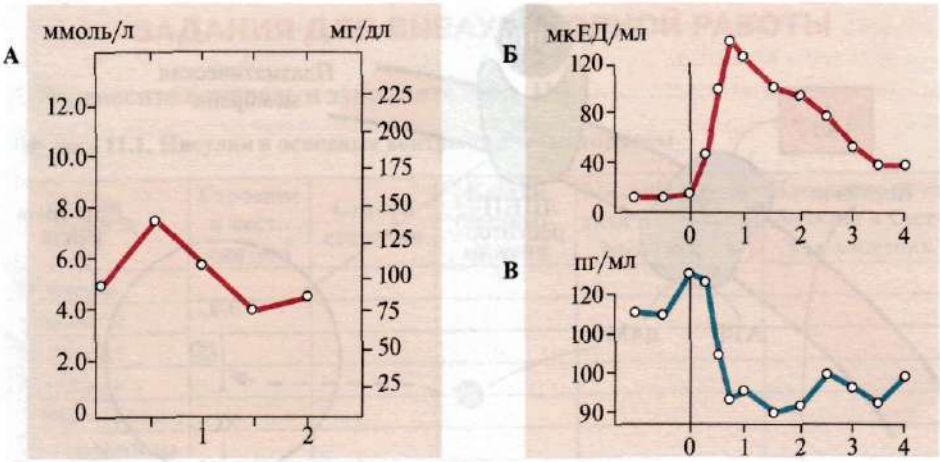


Рис. 11.13. Динамика изменений концентрации глюкозы (А), инсулина (Б) и глюкагона (В) после приема пищи, богатой углеводами

2. Выберите правильный ответ.

Глюкагон в жировой ткани активирует:

А. Гормончувствительную ТАГ-липазу

Б. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу

В. Ацетил-КоА-карбоксилазу

Г. ЛП-липазу

Д. Пируваткиназу

3. Выберите правильные ответы.

Йодтиронины:

А. Синтезируются в гипофизе

Б. Взаимодействуют с внутриклеточными рецепторами

В. Стимулируют работу Na, Ka-АТФазы

Г. В высоких концентрациях ускоряют процессы катаболизма

Д. Участвуют в ответной реакции на охлаждение

4. Установите соответствие:

А. Базедова болезнь

Б. Микседема

В. Эндемический зоб

Г. Кретинизм

Д. Аутоиммунный тиреоидит

1. Возникает при гипофункции щитовидной железы в раннем возрасте
2. Сопровождается накоплением протеогликанов и воды в коже
3. Является следствием образования иммуноглобулина, имитирующего действие ТТГ

5. Выберите правильные ответы.

Для абсорбтивного периода характерно:

А. Повышение концентрации инсулина в крови

Б. Ускорение синтеза жиров в печени

В. Ускорение глюконеогенеза

Г. Ускорение гликолиза в печени

Д. Повышение концентрации глюкагона в крови

6. Выберите правильные ответы.

Под влиянием инсулина в печени ускоряются:

А. Биосинтез белков

Б. Биосинтез гликогена

В. Глюконеогенез

Г. Биосинтез жирных кислот

Д. Гликолиз

7. Установите соответствие.

Гормон:

А. Инсулин

Б. Глюкагон

В. Кортизол

Г. Адреналин

Д. ТТГ

Функция:

1. Стимулирует синтез жиров из глюкозы в печени
2. Стимулирует мобилизацию гликогена в мышцах
3. Стимулирует синтез йодтиронинов

8. Выберите правильные ответы.

Стероидные гормоны:

А. Проникают в клетки-мишени

Б. Транспортируются кровью в комплексе со специфическими белками

В. Стимулируют реакции фосфорилирования белков

Г. Взаимодействуют с хроматином и изменяют скорость транскрипции

Д. Участвуют в процессе трансляции.

9. Выберите правильные ответы.

Инсулин:

А. Ускоряет транспорт глюкозы в мышцы

Б. Ускоряет синтез гликогена в печени

В. Стимулирует липолиз в жировой ткани

Г. Ускоряет глюконеогенез

Д. Ускоряет транспорт глюкозы в адипоциты

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. А, Г, Д

2. А

3. Б, В, Г, Д

4. 1—Г, 2—Б, 3 — А

5. А, Б, Г

6. А, Б, Г, Д

7. 1—А, 2—Г, 3—Д

8. А, Б, Г

9. А, Б, Д

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Гормон
2. Препрогормон
3. Стимулы для синтеза и секреции
4. Клетки-мишени
5. Рецепоры
6. Иерархия регуляторных систем
7. Аутокринный механизм действия
8. Паракринный механизм действия
9. Гомеостаз
10. Абсорбтивный период
11. Постабсорбтивный период
12. Адаптация
13. Гипофункция
14. Гиперфункция
15. Контринсулярные гормоны

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. При обследовании больных с явлениями гиперкортицизма используют функциональную пробу с «нагрузкой» дексаметазоном (дексаметазон — структурный аналог кортизола). Как изменится концентрация 17-кетостероидов в моче пациентов после введения дексаметазона, если причиной гиперкортицизма является:

а) гиперпродукция кортикотропина;
б) гормонально активная опухоль надпочечников.

2. Родители пятилетней девочки обратились в медицинский центр для консультации. При обследовании у ребенка отмечены проявления вторичных мужских половых признаков: гипертрофия мышц, избыточное оволосенение, снижение тембра голоса. В крови повышен уровень АКТГ. Врач диагностировал адреногенитальный синдром (врожденная дисфункция коры надпочечников). Обоснуйте диагноз врача. Для этого:

а) представьте схему синтеза стероидных гормонов; назовите основные физиологически активные кортикостероиды и укажите их функции;
б) назовите ферменты, недостаточность которых является причиной описанных выше симптомов;
в) укажите образование каких продуктов синтеза кортикостероидов увеличивается при этой патологии;
г) объясните, почему у ребенка в крови повышена концентрация АКТГ.

3. Одна из форм болезни Аддисона является следствием атрофии клеток коры надпочечников при длительном лечении кортикостероидными препаратами. Основные проявления болезни: мышечная слабость, гипоглюкоземия,

дистрофические изменения в мышцах, снижение артериального давления; в ряде случаев у таких больных отмечается усиление пигментации кожи и слизистых. Как объяснить перечисленные симптомы заболевания? Для объяснения:

а) представьте схему синтеза стероидных гормонов; назовите основные физиологически активные кортикостероиды и укажите их функции;
б) укажите, дефицит каких кортикостероидов является причиной гипоглюкоземии и мышечной дистрофии при этом заболевании;
в) назовите причину повышенной пигментации кожи при болезни Аддисона.

4. Пациенту N с гипотиреозом врач назначил лечение, включающее прием тироксина. Спустя 3 месяца после начала лечения уровень ТТГ в крови снизился незначительно. Почему этому больному врач рекомендовал увеличить дозу тироксина? Для ответа:

а) представьте в виде схемы механизм регуляции синтеза и секреции тиреоидных гормонов;
б) используя схему, обоснуйте рекомендацию врача.

5. Девушка 18-лет живущая в горном селении, обратилась к эндокринологу с жалобами на общую слабость, снижение температуры тела, ухудшение настроения. Пациентка была направлена на анализ крови на ТТГ и йодтиронины. Результаты анализа показали повышение коцентрации ТТГ и снижение концентрации T_4. Объясните:

а) какое заболевание можно предположить у пациентки;
б) что может быть причиной такой патологии;
в) есть ли связь между местом проживания и возникновением данного заболевания;
г) какую диету следует соблюдать в целях профилактики этой патологии;
д) схему регуляции синтеза йодтиронинов и результаты анализа крови у обследуемой.

6. Для лечения диффузного токсического зоба применяют тиреостатические препараты группы тионамидов (тиамазол). Механизм действия тионамидов заключается в том, что, попадая в щитовидную железу, они подавляют активность тиероперoксидазы. Объясните результат лечебного действия тионамидов. Для этого:

а) назовите основные причины и клинические проявления тиреотоксикоза;
б) приведите схему синтеза йодтиронинов и укажите этапы, на которые действуют лекарства;
в) укажите, как изменится концентрация йодтиронинов и ТТГ в результате лечения;
г) опишите изменения метаболизма при лечении тионамидами.

Модульная единица 2
БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ ПРИ ГОЛОДАНИИ И САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Цели изучения

Уметь:

1. Интерпретировать изменения в метаболизме углеводов, жиров и белков при голодании и физической нагрузке как результат действия контринсулярных гормонов.
2. Анализировать молекулярные механизмы причин сахарного диабета.
3. Объяснять механизмы возникновения симптомов сахарного диабета как следствие изменений скоростей метаболических процессов.
4. Интерпретировать основные различия в обмене веществ при голодании и сахарном диабете.

Знать:

1. Изменения гормонального статуса при голодании.
2. Изменение обмена основных энергоносителей при голодании.
3. Изменение гормонального статуса и энергетического метаболизма при сахарном диабете.
4. Основные симптомы сахарного диабета и механизмы их возникновения.
5. Патогенез острых осложнений при диабете.
6. Биохимические основы поздних осложнений сахарного диабета.
7. Подходы к лабораторной диагностике сахарного диабета.
8. Молекулярные механизмы принципов лечения сахарного диабета и перспективные направления лечения.

ТЕМА 11.6. ИЗМЕНЕНИЯ ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА И МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ГОЛОДАНИИ И ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТЕ

1. В постабсорбтивном периоде и голодании уровень глюкозы в плазме крови падает до нижней границы нормы. Отношение инсулин — глюкагон снижается. В этих условиях возникает состояние, для которого характерно преобладание процессов катаболизма жиров, гликогена и белков на фоне общего снижения скорости метаболизма. Под влиянием контринсулярных гормонов в этот период происходит обмен субстратами между печенью, жировой тканью, мышцами и мозгом. Этот обмен служит двум целям:

- поддержанию концентрации глюкозы в крови за счет глюконеогенеза для обеспечения глюкозозависимых тканей (мозга, эритроцитов);
- мобилизации других «топливных» молекул, в первую очередь жиров, для обеспечения энергией всех других тканей.

Проявление этих изменений позволяет условно выделить три фазы *голодания. Вследствие переключения метаболизма на режим мобилизации* энергоносителей даже после 5—6 недель голодания концентрация глюкозы в крови составляет не менее 65 мг/дл. Основные изменения при голодании происходят в печени, жировой ткани и мышцах (рис. 11.14).

2. Фазы голодания. Голодание может быть кратковременным — в течение суток (первая фаза), продолжаться в течение недели (вторая фаза) или нескольких недель (третья фаза).

В **первую фазу** концентрация инсулина в крови снижается примерно в 10—15 раз по сравнению с периодом пищеварения, а концентрация глюкагона и кортизола увеличивается. Запасы гликогена исчерпываются, нарастает скорость мобилизации жиров и скорость глюконеогенеза из аминокислот и глицерола, концентрация глюкозы в крови снижается до нижней границы нормы (60 мг/дл).

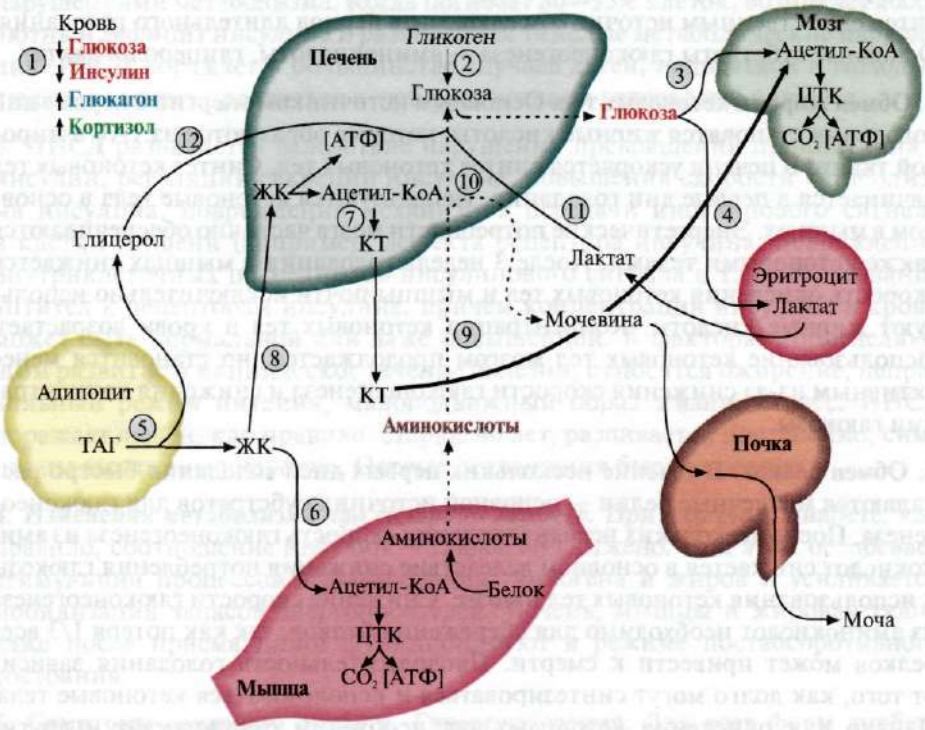


Рис. 11.14. Изменения метаболизма основных энергоносителей при голодании:

1 – снижение инсулин-глюкогонового индекса; 2 – мобилизация гликогена; 3, 4 – транспорт ГЛК в мозг и эритроциты; 5 – мобилизация ТАГ; 6 – транспорт ЖК в мышцы; 7 – синтез кетоновых тел; 8 – транспорт ЖК в печени; 9 – транспорт АК в печень; 10 – глюконеогенез из АК; 11 – транспорт лактата в печень; 12 – транспорт глицерола в печень. Пунктиром обозначены процессы, скорость которых снижается

Во **вторую фазу** продолжается мобилизация жиров, концентрация жирных кислот в крови повышается, увеличивается скорость образования кетоновых тел в печени и, соответственно, их концентрация в крови; ощущается запах ацетона, который выделяется с выдыхаемым воздухом и потом от голодающего человека. Глюконеогенез продолжается за счет распада тканевых белков.

В **третью фазу** снижается скорость распада белков и скорость глюконеогенеза из аминокислот. Скорость метаболизма замедляется. Азотистый баланс во все фазы голодания отрицательный. Для мозга важным источником энергии, наряду с глюкозой, становятся кетоновые тела.

3. Изменения метаболизма основных энергоносителей при голодании. Обмен углеводов. Запасы гликогена в организме истощаются в течение 24-часового голодания. Таким образом, за счет мобилизации гликогена обеспечивается только кратковременное голодание. Основной процесс, обеспечивающий ткани глюкозой в период голодания, — глюконеогенез. Глюконеогенез начинает ускоряться через 4—6 часов после последнего приема пищи и становится единственным источником глюкозы в период длительного голодания. Основные субстраты глюконеогенеза — аминокислоты, глицерол и лактат.

4. Обмен жиров и кетоновых тел. Основным источником энергии в первые дни голодания становятся жирные кислоты, которые образуются из ТАГ в жировой ткани. В печени ускоряется синтез кетоновых тел. Синтез кетоновых тел начинается в первые дни голодания. Используются кетоновые тела в основном в мышцах. Энергетические потребности мозга частично обеспечиваются также кетоновыми телами. После 3 недель голодания в мышцах снижается скорость окисления кетоновых тел и мышцы почти исключительно используют жирные кислоты. Концентрация кетоновых тел в крови возрастает. Использование кетоновых тел мозгом продолжается, но становится менее активным из-за снижения скорости глюконеогенеза и снижения концентрации глюкозы.

5. Обмен белков. В течение нескольких первых дней голодания быстро распадаются мышечные белки — основной источник субстратов для глюконеогенеза. После нескольких недель голодания скорость глюконеогенеза из аминокислот снижается в основном вследствие снижения потребления глюкозы и использования кетоновых тел в мозге. Снижение скорости глюконеогенеза из аминокислот необходимо для сбережения белков, так как потеря 1/3 всех белков может привести к смерти. Продолжительность голодания зависит от того, как долго могут синтезироваться и использоваться кетоновые тела. Однако для окисления кетоновых тел необходим оксалоацетат и другие компоненты ЦТК. В норме они образуется из глюкозы и аминокислот, а при голодании только из аминокислот.

ТЕМА 11.7. ИЗМЕНЕНИЯ ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА И МЕТАБОЛИЗМА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

1. Сахарный диабет возникает вследствие относительного или абсолютного дефицита инсулина. В соответствии с классификацией ВОЗ различают две основные формы заболевания: диабет I типа — **инсулинзависимый (ИЗСД)**, и диабет II типа (**ИНСД**) — **инсулиннезависимый**.

2. ИЗСД является следствием разрушения β-клеток островков Лангерганса в результате аутоиммунных реакций. Провоцировать возникновение диабета I типа может вирусная инфекция, вызывающая деструкцию β-клеток. К таким вирусам относятся вирусы оспы, краснухи, кори, цитомегаловирус, эпидимического паротита, вирус Коксаки, аденовирус. На долю ИЗСД приходится примерно 25—30% всех случаев диабета. Как правило, разрушение β-клеток происходит медленно и начало заболевания не сопровождается нарушениями метаболизма. Когда погибает 80—95% клеток, возникает абсолютный дефицит инсулина и развиваются тяжелые метаболические нарушения. ИЗСД поражает в большинстве случаев детей, подростков и молодых людей, но может проявиться в любом (начиная с годовалого) возрасте.

3. ИНСД развивается вследствие нарушения превращения проинсулина в *инсулин, регуляции секреции инсулина, повышения скорости катаболизма* инсулина, повреждения механизмов передачи инсулинового сигнала в клетки-мишени (например, дефекта рецептора инсулина, повреждения внутриклеточных посредников инсулинового сигнала и т.д.), образование антител к рецепторам инсулина, причем концентрация инсулина в крови может быть нормальной или даже повышенной. К факторам, определяющим *развитие и клиническое течение болезни, относятся ожирение*, неправильный режим питания, малоподвижный образ жизни, стресс. ИНСД поражает людей, как правило, старше 40 лет, развивается постепенно, симптомы выражены умеренно. Острые осложнения бывают редко.

4. Изменения метаболизма при сахарном диабете. При сахарном диабете, как правило, соотношение инсулин — глюкагон снижено. При этом ослабевает стимуляция процессов депонирования гликогена и жиров и усиливается мобилизация запасов энергоносителей. Печень, мышцы и жировая ткань даже после приема пищи функционируют в режиме постабсорбтивного состояния.

5. Симптомы сахарного диабета. Гиперглюкоземия. Для всех форм диабета *характерно повышение концентрации глюкозы в крови* — ***гиперглюкоземия***, как после приема пищи, так и натощак, а также глюкозурия. После приема пищи концентрация глюкозы может достигать 300—500 мг/дл и сохраняется на высоком уровне в постабсорбтивном периоде, т.е. снижается толерантность к глюкозе.

Снижение толерантности к глюкозе наблюдается и в случаях скрытой (латентной) формы сахарного диабета. В этих случаях у людей отсутствуют жалобы и клинические симптомы, характерные для сахарного диабета, а концентрация глюкозы в крови натощак соответствует верхней границе нормы. Однако использование провокационных проб (например, сахарной нагрузки) выявляет снижение толерантности к глюкозе (рис. 11.15).

Повышение концентрации глюкозы при ИЗСД в плазме крови обусловлено несколькими причинами. При снижении инсулин-глюкагонового индекса усиливаются эффекты контринсулярных гормонов, уменьшается количество белков — переносчиков глюкозы (ГЛЮТ-4) на мембранах инсулинзависимых клеток (жировой ткани и мышц). Следовательно, снижается потребление глюкозы этими клетками. В мышцах и печени глюкоза не депонируется в виде гликогена, в жировой ткани уменьшается скорость синтеза и депонирования жиров. Кроме того, действие конринсулярных гормонов, в первую очередь глюкагона, активирует глюконеогенез из аминокислот, глицерола и лактата. Повышение уровня глюкозы в крови при сахарном диабете выше концентрационного почечного порога, равного 180 мг/дл, становится причиной выделения глюкозы с мочой.

Кетонемия является характерным признаком сахарного диабета. При низком соотношении инсулин — глюкагон жиры не депонируются, ускоряется их катаболизм, так как гормончувствительная липаза в жировой ткани находится в фосфорилированной активной форме. Концентрация неэтерифицированных жирных кислот в крови повышается. Печень захватывает жирные кислоты и окисляет их до ацетил-КоА, который в свою очередь

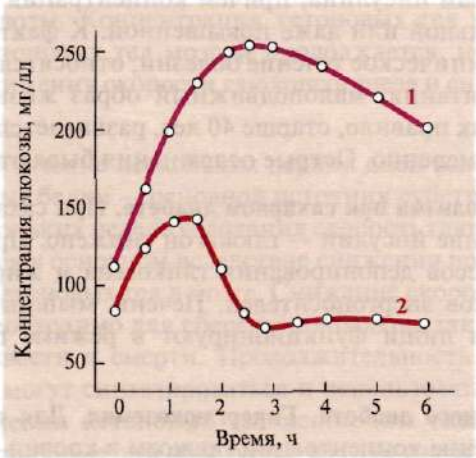


Рис. 11.15. Изменение толерантности к глюкозе у больных скрытой формой сахарного диабета.

Определение толерантности к глюкозе используют для диагностики сахарного диабета. Обследуемый принимает раствор глюкозы из расчета 1 г на 1 кг массы тела (сахарная нагрузка). Концентрацию глюкозы в крови измеряют в течение 2—3 часов с интервалами в 30 минут. 1 — у здорового человека, 2 — у больного сахарным диабетом

превращается в β-гидроксимасляную и ацетоуксусную кислоты, в результате чего в крови повышается концентрация кетоновых тел — **кетонемия**. В тканях ацетоацетат частично декарбоксируется до ацетона, запах которого исходит от больных сахарным диабетом и ощущается даже на расстоянии. Увеличение концентрации кетоновых тел в крови (выше 20 мг/дл, иногда до 100 мг/дл) приводит к **кетонурии**. Накопление кетоновых тел снижает буферную емкость крови и вызывает **ацидоз (кетоацидоз)**.

Гиперлипопротеинемия. Пищевые жиры не депонируются в жировой ткани вследствие ослабления процессов запасания и низкой активности ЛП-липазы, а поступают в печень, где превращаются в триацилглицеролы, которые транспортируются из печени в составе ЛПОНП.

Азотемия. При диабете дефицит инсулина приводит к снижению скорости синтеза и усилению распада белков в организме. Это вызывает повышение концентрации аминокислот в крови. Аминокислоты поступают в печень и дезаминируются. Безазотистые остатки гликогенных аминокислот включаются в глюконеогенез, что еще более усиливает гиперглюкоземию. Образующийся при этом аммиак вступает в орнитиновый цикл, что приводит к увеличению концентрации мочевины в крови и соответственно в моче – **азотемии** и **азотурии**.

Полиурия. Для выведения большого количества глюкозы, кетоновых тел и мочевины требуется большой объем жидкости, в результате чего может наступить обезвоживание организма. Это объясняется особенностями концентрационной способности почек. Например, выделение мочи у больных возрастает в несколько раз и в некоторых случаях достигает 8—9 л в сутки, но чаще не превышает 3—4 л. Этот симптом называется **полиурией**. Потеря воды вызывает постоянную жажду и увеличение потребления воды — **полидипсию**.

6. Острые осложнения сахарного диабета. Механизмы развития диабетической комы. Нарушения обмена углеводов, жиров и белков при сахарном диабете могут приводить к развитию коматозных состояний (острые осложнения). Диабетическая кома проявляется как резкое нарушение всех функций организма, сопровождающееся потерей сознания. Основными предшественниками диабетической комы являются ацидоз и дегидратация тканей (рис. 11.16).

При декомпенсации диабета развивается нарушение водно-электролитного обмена. Причиной этого является гиперглюкоземия, сопровождающаяся повышением осмотического давления в сосудистом русле. Для сохранения осмолярности начинается компенсаторное перемещение жидкости из клеток и внеклеточного пространства в сосудистое русло. Это ведет к потере тканями воды и электролитов, прежде всего ионов Na^+, K^+, Cl^-, HCO_3^-. В результате развиваются тяжелая клеточная дегидратация и дефицит внутриклеточных ионов (прежде всего K^+), сопровождающаяся общей дегидратацией. Это приводит к снижению периферического кровообращения, уменьшению мозгового и почечного кровотока и гипоксии. Диабетическая кома развивается медленно, в течение нескольких дней, но иногда может

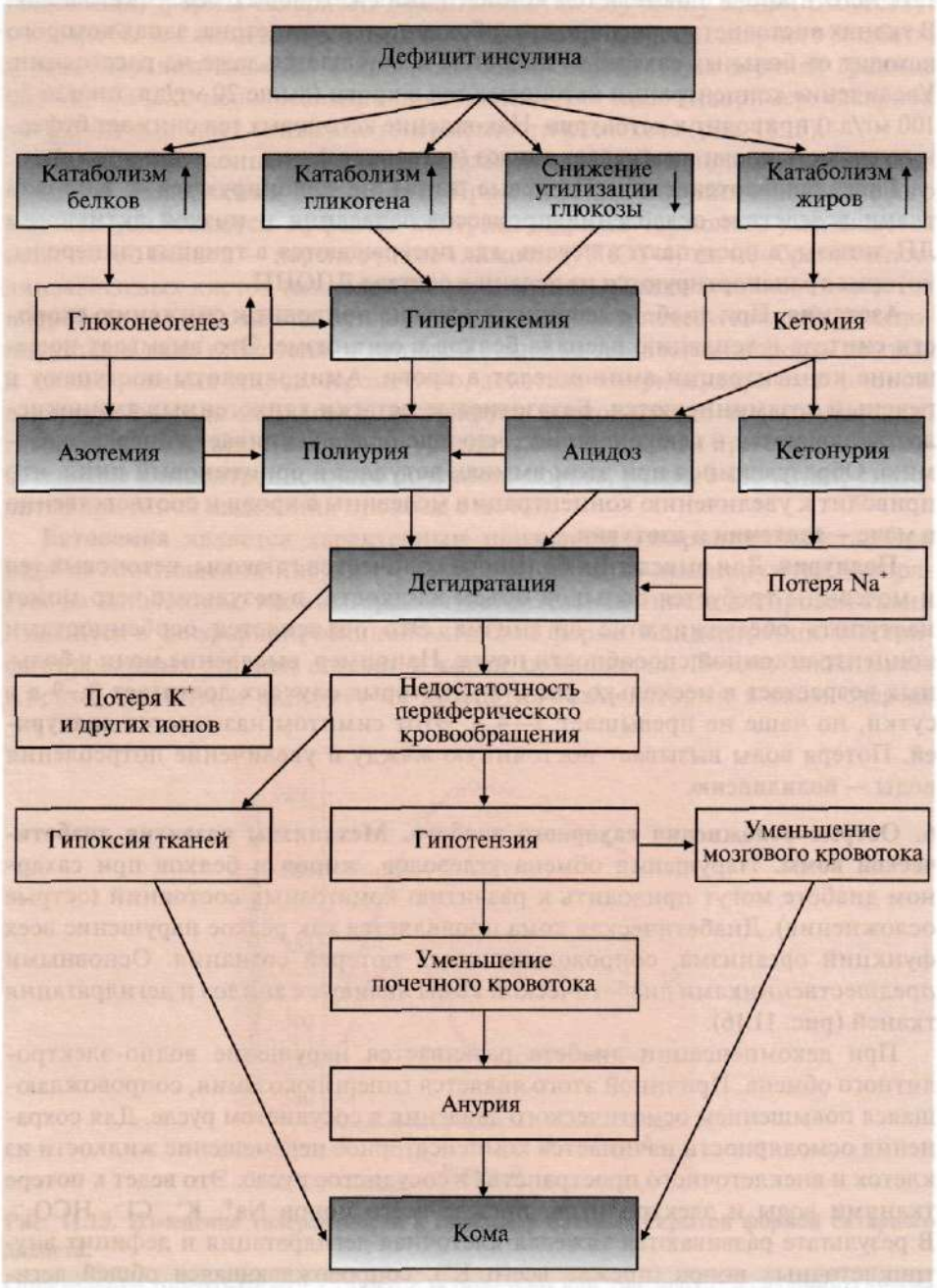


Рис. 11.16. Изменения метаболизма при сахарном диабете и причины диабетической комы

возникнуть и в течение нескольких часов. Первыми признаками могут быть тошнота, рвота, заторможенность. Артериальное давление у больных снижено.

Коматозные состояния при сахарном диабете могут проявляться в трех основных формах: кетоацидотической, гиперосмолярной и лактоацидотической.

Для кетоацидотической комы характерны выраженный дефицит инсулина, кетоацидоз, полиурия, полидипсия. Гиперглюкоземия (20—30 ммоль/л), обусловленная инсулиновой недостаточностью, сопровождается большими потерями жидкости и электролитов, дегидратацией и гиперосмолярностью плазмы. Общая концентрация кетоновых тел достигает 100 мг/дл и выше.

При **гиперосмолярной** коме наблюдается чрезвычайно высокие уровни глюкозы в плазме крови, полиурия, полидипсия, всегда проявляется тяжелая дегидратация. Предполагают, что у большинства больных гиперглюкоземия обусловлена сопутствующим нарушением функции почек. Кетоновые тела в сыворотке крови обычно не определяются.

При **лактоацидотической** коме преобладающими являются гипотония, снижение периферического кровообращения, гипоксия тканей, приводящая к смещению метаболизма в сторону анаэробного гликолиза, что обусловливает повышение концентрации молочной кислоты в крови (лактоацидоз).

7. Поздние осложнения сахарного диабета являются следствием длительной гиперглюкоземии и часто приводят к ранней инвалидизации больных. Гиперглюкоземия приводит к повреждению кровеносных сосудов и нарушению функций различных тканей и органов. Одним из основных механизмов повреждения тканей при сахарном диабете является **глюкозилирование** *белков и связанное с этим нарушение функции клеток тканей, изменение* реологических свойств крови и гемодинамики (текучесть, вязкость).

Некоторые соединения в норме содержат углеводные компоненты (гликопротеины, протеогликаны, гликолипиды). Синтез этих соединений происходит в результате ферментативных реакций (ферментативное глюкозилирование). Однако в организме человека может происходить и неферментативное взаимодействие альдегидной группы глюкозы со свободными аминогруппами белков (неферментативное глюкозилирование). В тканях здоровых людей этот процесс протекает медленно, а при гиперглюкоземии ускоряется.

Одним из первых признаков диабета является увеличение в 2—3 раза *глюкозилированного гемоглобина. На протяжении всего срока существования* эритроцитов глюкоза свободно проникает через его мембрану и без участия ферментов необратимо связывается с гемоглобином, преимущественно β-цепями. При этом образуется глюкозилированная форма гемоглобина HbA_{1c}. Эта форма гемоглобина в небольшом количестве имеется и у здоровых людей. В условиях хронической гиперглюкоземии процент HbA_{1c} по отношению к общему количеству гемоглобина увеличивается.

Степень глюкозилирования белков зависит от скорости их обновления. В медленно обменивающихся белках накапливается больше изменений. К медленно обменивающимся белкам относятся белки межклеточного

матрикса, базальных мембран, хрусталика глаза (кристаллины). Утолщение базальных мембран — один из ранних и постоянных признаков сахарного диабета, проявляющихся в форме диабетических ангиопатий.

Изменения, проявляющиеся в снижении эластичности артерий, поражении крупных и средних сосудов мозга, сердца, нижних конечностей, называются **диабетическими макроангиопатиями**. Они развиваются вследствие глюкозилирования белков межклеточного матрикса — коллагена и эластина, что приводит к снижению эластичности сосудов и нарушению кровообращения.

Результат повреждения капилляров и мелких сосудов — **микроангиопатии** проявляются в форме нефро- и ретинопатии. Причиной некоторых поздних осложнений сахарного диабета (катаракты, ретинопатии) может быть повышение скорости превращения глюкозы в сорбитол. Сорбитол не используется в других метаболических путях, а скорость его диффузии из клеток невелика. У больных сахарным диабетом сорбитол накапливается в сетчатке и хрусталике глаза, клетках клубочков почек, шванновских клетках, в эндотелии. Сорбитол в высоких концентрациях токсичен для клеток. Его накопление в нейронах приводит к увеличению осмотического давления, набуханию клеток и отеку тканей. Помутнение хрусталика, или катаракта, может развиться как вследствие вызванного накоплением сорбитола набухания хрусталика и нарушения упорядоченной структуры кристаллинов, так и вследствие глюкозилирования кристаллинов, которые образуют многомолекулярные агрегаты, увеличивающие преломляющую способность хрусталика.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Рассмотрите рис. 11.14, изобразите схемы процессов, которые ускоряются в печени и других тканях при наступлении постабсорбтивного периода, выпишите названия метаболических путей и соответствующие регуляторные ферменты.

2. Проанализируйте изменения метаболизма, представленные на рис. 11.10 и 11.11 и сравните их с изменениями, изображенными на рис. 11.14. Для этого:

а) назовите процессы, которые активируются и ингибируются при длительном голодании;

б) выберите и напишите схемы процессов, за счет которых поддерживается концентрация глюкозы в крови при длительном голодании;

в) для каждого выбранного процесса укажите ключевые ферменты и гормоны, под влиянием которых происходит их активация;

г) выберите и напишите схемы процессов, за счет которых осуществляется энергообеспечение мышц при длительном голодании.

3. Изучите схему изменений метаболизма при сахарном диабете (рис. 11.16). Объясните причины возникновения гиперглюкоземии. Выпишите названия метаболических путей, которые ускоряются в этих условиях.

4. Объясните причины и механизмы возникновения кетоацидоза при сахарном диабете и изобразите соответствующую схему.

5. Сравните изменения гормонального статуса и метаболизма при сахарном диабете и голодании (рис. 11.14 и 11.16). Объясните, почему на фоне гипергликемии при сахарном диабете происходит катаболизм жиров и белков.

6. Перечислите основные симптомы сахарного диабета. Обоснуйте справедливость выражения: «сахарный диабет — это голод среди изобилия». Для этого:

а) назовите проявления сахарного диабета, сходные с изменениями обмена веществ при голодании;
б) объясните причины возникновения этих изменений;
в) назовите основные различия в обмене веществ при сахарном диабете и голодании.

7. Продолжите заполнение таблицы поздних осложнений сахарного диабета (табл. 11.2):

Таблица 11.2. Поздние осложнения сахарного диабета

Клинические проявления	Причины возникновения
1. Макроангиопатия	Глюкозилирование коллагена и эластина
2.	
3.	

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильный ответ.

При голодании:

А. Ацетил-КоА-карбоксилаза фосфорилирована и активна
Б. Гормон-чувствительная ТАГ-липаза неактивна
В. ЛП-липаза в жировой ткани активна
Г. Пируваткиназа в печени фосфорилирована и активна
Д. cAMP-зависимая протеинкиназа в адипоцитах активна

2. Выберите правильные ответы.

При трехдневном голодании:

А. Инсулин-глюкагоновый индекс снижен
Б. Скорость глюконеогенеза из аминокислот увеличивается
В. Скорость синтеза ТАГ в печени снижается
Г. Скорость β-окисления в печени снижается
Д. Концентрация кетоновых тел в крови выше нормы

3. Выберите правильные ответы.

Увеличение скорости синтеза кетоновых тел при голодании является следствием:

А. Снижения уровня глюкагона

Б. Снижения образования Ацетил-КоА в печени

В. Повышения концентрации жирных кислот в плазме крови

Г. Снижения скорости β-окисления в печени

Д. Снижения активности гормон-чувствительной ТАГ-липазы в адипоцитах

4. Выберите правильные ответы.

При сахарном диабете в печени происходит:

А. Ускорение синтеза гликогена

Б. Увеличение скорости глюконеогенеза

В. Снижение скорости синтеза жиров

Г. Увеличение скорости синтеза ацетоацетата

Д. Повышение активности ацетил-КоА-карбоксилазы

5. Установите соответствие:

А. Высокий уровень инсулина

Б. Алкалоз

В. Гипоглюкоземия

Г. Высокий уровень кортизола

Д. Аутоиммунное повреждение β-клеток

1. Только при сахарном диабете
2. Только при голодании
3. Только при стероидном диабете

6. Выберите правильные ответы.

При ИЗСД у больных наиболее часто обнаруживается:

А. Гиперглюкоземия

Б. Высокая скорость катаболизма инсулина

В. Концентрация инсулина в крови в норме или выше нормы

Г. Антитела к β-клеткам поджелудочной железы

Д. Микроангиопатии

7. Установите соответствие:

А. Макроангиопатии

Б. Катаракта

В. Микроангиопатии

Г. Нефропатия

Д. Нейропатии

1. Активация сорбитольного пути в шванновских клетках
2. Глюкозилирование кристаллинов
3. Утолщение базальных мембран клубочков почек

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. Д
2. А, Б, В, Д
3. В
4. Б, В, Г
5. 1—Д, 2—В, 3—Г
6. А, Г, Д
7. 1—Д, 2—Б, 3—Г

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Голодание
2. Фазы голодания
3. Сахарный диабет
4. ИЗСД
5. ИНСД
6. Гиперглюкоземия — глюкозурия
7. Кетонемия — кетонурия
8. Азотемия — азотурия
9. Поздние осложнения сахарного диабета
10. Диабетическая кома
11. Кетоацидотическая кома
12. Гиперосмолярная кома
13. Лактоацидотическая кома
14. Микроангиопатии
15. Макроангиопатии
16. Нейропатии
17. Нефропатия

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Туристы не рассчитали запасы продовольствия и пока не добрались до первого населенного пункта вынуждены были голодать в течение 2 суток. Какие изменения в обмене веществ произойдут у этих туристов? Для объяснения:

а) укажите, как изменится концентрация глюкозы в крови у туристов к концу 2-го дня голодания;

б) напишите схемы процессов, за счет активации которых поддерживается нормальная концентрация глюкозы в первые сутки голодания;

в) назовите гормоны, которые регулируют уровень глюкозы в этот период;

г) представьте в виде схемы механизм действия этих гормонов;

д) укажите регуляторные реакции этих путей и способы их активации.

2. Биохимические исследования крови и мочи больного сахарным диабетом I типа показали:

Содержание	В крови	В моче
Глюкозы	14 ммоль/л (250 мг/дл)	40 г/л (4%)
Ацетоацетата	10,0 мг/дл	20 г/л (2%)

Как изменятся эти показатели при однократном введении больному средней суточной дозы инсулина? В результате активации каких процессов произойдут эти изменения?

3. На прием к терапевту пришел пациент с жалобами на прогрессирующую слабость, сонливость, головокружение. Симптомы усиливались при голодании, что позволило врачу предположить наличие у больного гипоглюкоземии. Анализ крови подтвердил предположение (уровень глюкозы менее 2,5 ммоль/л) и показал к тому же сильно повышенный уровень С-пептида (более 800 пмоль/л). Пациент не страдает СД и не принимает сахаропонижающих препаратов. Наличие какого заболевания можно предположить? При ответе на вопрос:

а) назовите стимулы, влияющие на секрецию инсулина;
б) опишите влияние инсулина на углеводный и жировой обмен в печени, жировой ткани и мышцах;
в) объясните, чем опасна гипоглюкоземия и какие процессы в организме в норме предотвращают развитие гипоглюкоземии даже при голодании;
г) назовите заболевание и предположите метод лечения.

4. Пациент N обратился с жалобами на постоянное чувство голода, жажду, быструю утомляемость и усталость. Определение концентрации глюкозы натощак показало 130 мг/дл. Какие дополнительные исследования для установления диагноза необходимо провести в этом случае? Какие результаты можно прогнозировать в случае обнаружения у обследуемого диабета II типа?

5. Пациент с диагнозом ИЗСД длительное время не получал инъекций инсулина. После обращения больного к врачу и тщательного обследования назначена инсулиновая терапия. Через 2 месяца определение концентрации глюкозы в крови натощак показало 85 мг/дл, уровень глюкозилированного гемоглобина составил 14% общего уровня гемоглобина (норма 5,8—7,2%).

Каковы возможные причины высокой концентрации глюкозилированного гемоглобина у данного больного, несмотря на проводимое лечение? Приведите примеры глюкозилирования других белков. Объясните, к каким осложнениям это может привести.

6. Пациент 39 лет поступил с жалобами на сильную жажду, быструю утомляемость. Потеря веса за последние 5 недель составила 4 кг, несмотря на хороший аппетит и нормальную физическую нагрузку. Анализ крови показал, что концентрация глюкозы спустя 2 часа после приема пищи равна 242 мг/дл. Какое заболевание можно предположить у данного пациента? Что является причиной жажды? Как объяснить быструю утомляемость пациента?

Модульная единица 3
РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА. РОЛЬ ВАЗОПРЕССИНА, АЛЬДОСТЕРОНА И РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА CA^{2+} И ФОСФАТОВ

Цели изучения

Уметь:

1. Анализировать изменения метаболизма, возникающие при некоторых нарушениях водно-солевого обмена (гиперальдостеронизм, почечная гипертония).
2. Интерпретировать молекулярные механизмы нарушений синтеза и секреции гормонов, обеспечивающих регуляцию обмена кальция.

Знать:

1. Характеристики основных гормонов ВСО и этапы его регуляции.
2. Основные функции кальция в организме.
3. Механизмы гормональной регуляции обмена ионов кальция и фосфатов.
4. Проявления некоторых нарушений синтеза и секреции гормонов, регулирующих обмен кальция и фосфатов (гипо- и гиперпаратиреоидизм, рахит).

ТЕМА 11.8. РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА

1. Основными параметрами **водно-солевого гомеостаза** являются осмотическое давление, pH и объем внутриклеточной и внеклеточной жидкости. Изменение этих параметров может привести к изменению кровяного давления, ацидозу или алкалозу, дегидратации и отекам. Основными гормонами, участвующими в регуляции водно-солевого баланса, являются **антидиуретический гормон (АДГ), альдостерон** и **предсердный натриуретический фактор (ПНФ)**.

2. Антидиуретический гормон (АДГ), или вазопрессин, — пептид, содержащий девять аминокислот, соединенных одним дисульфидным мостиком. Синтезируется в виде прогормона в гипоталамусе, затем переносится в нервные окончания задней доли гипофиза, из которых секретируется в кровоток при соответствующей стимуляции. Перемещение по аксону связано со специфическим белком-переносчиком (нейрофизином) (рис. 11.17).

Стимулом, вызывающим секрецию АДГ, служит повышение концентрации ионов натрия и увеличение осмотического давления внеклеточной жидкости.

Наиболее важные клетки-мишени для АДГ — клетки дистальных канальцев и собирательные трубочки почек. Клетки этих протоков относительно непроницаемы для воды, и в отсутствие АДГ моча не концентрируется и может выделяться в количествах, превышающих 20 л в сутки (норма 1—1,5 л в сутки).

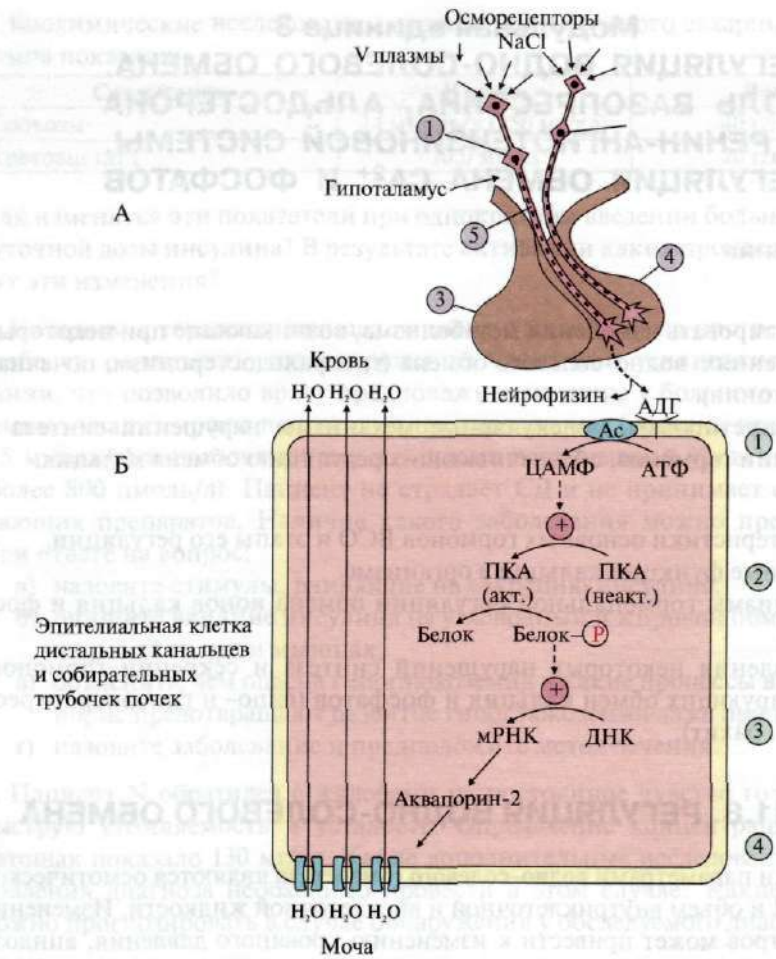


Рис. 11.17. Секреция и механизм действия антидиуретического гормона:

А: 1 — супраоптический нейрон; 2 — паравентрикулярный нейрон; 3 — передняя доля гипофиза; 4 — задняя доля гипофиза; 5 — АДГ-нейрофизин;
Б: 1 — АДГ связывается с мембранным рецептором V_2, вызывая активацию аденилатциклазы (АЦ) и, как следствие, образование цАМФ; 2 — цАМФ активирует протеинкиназу, фосфорилирующую белки; 3 — фосфорилированные белки индуцируют транскрипцию гена белка аквапорина; 4 — аквапорин встраивается в мембрану клетки почечного канальца

Для АДГ существует два типа рецепторов — V_1 и V_2. **Рецептор V_2** обнаружен только на поверхности эпителиальных клеток почек. Связывание АДГ с V_2 сопряжено с аденилатциклазной системой и стимулирует активацию протеинкиназы (ПКА), которая фосфорилирует белки, стимулирующие экспрессию гена мембранного белка — аквапорина-2. Аквапорин-2 перемещается к апикальной мембране, встраивается в нее и образует водные каналы, через которые молекулы воды свободно диффундируют в клетки

почечных канальцев, а затем поступают в интерстициальное пространство. В результате происходит реабсорбция воды из почечных канальцев (см. рис. 11.17). **Рецепторы типа V_1** локализованы в мембранах гладких мышц. Взаимодействие АДГ с рецептором V_1 приводит к активации фосфолипазы С, в результате чего происходит высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума и сокращение гладкомышечного слоя сосудов.

3. Несахарный диабет. Дефицит АДГ, вызванный дисфункцией задней доли гипофиза, а также нарушением в системе передачи гормонального сигнала, может приводить к развитию **несахарного диабета**. Основным проявлением несахарного диабета является **полиурия**, т.е. выделение большого количества мочи низкой плотности.

4. Альдостерон — наиболее активный минералокортикостероид – синтезируется клетками клубочковой зоны коры надпочечников из холестерола. Синтез и секреция альдостерона стимулируется при низкой концентрации Na^+, высокой концентрации K^+ и ренин-ангиотензиновой системой. Гормон проникает внутрь клеток почечных канальцев, взаимодействует со специфическим рецептором, цитоплазматическим или ядерным (рис. 11.18), и индуцирует синтез белков, которые обеспечивают реабсорбцию ионов натрия и экскрецию ионов калия.

Кроме того, белки, синтез которых индуцируется альдостероном, увеличивают количество насосов Na^+, K^+ – АТФазы, а также служат ферментами ЦТК, генерирующего молекулы АТФ для активного транспорта ионов. Суммарным результатом действия альдостерона является задержка NaCl в организме.

5. Главную роль в регуляции водно-солевого баланса, а значит, регуляции объема крови и артериального давления служит система **ренин-ангиотензин-альдостерон** (рис. 11.19).

Протеолитический фермент **ренин** синтезируется юкстагломерулярными клетками почечных афферентных артериол. Уменьшение кровяного давления в приносящих артериолах, потеря жидкости или крови, снижение концентрации NaCl стимулируют высвобождение ренина. Образующийся в печени белок **ангиотензиноген** гидролизуется ренином с образованием ангиотензина I, который в свою очередь служит субстратом для АПФ (ангиотензин-превращающего фермента карбоксидипентидилпептидазы). От ангиотензина I отщепляется дипептид с образованием ангиотензина II. Через инозитолфосфатную систему **ангиотензин II** стимулирует синтез и секрецию альдостерона. Являясь также мощным сосудосуживающим веществом, ангиотензин II вызывает сокращение гладкомышечных клеток кровеносных сосудов, соответственно повышение кровяного давления и, кроме этого, вызывает жажду.

6. Система ренин-ангиотензин-альдостерон обеспечивает **восстановление объема крови**, который может уменьшиться в результате кровотечения, обильной рвоты, диареи, потения — состояний, являющихся сигналом для

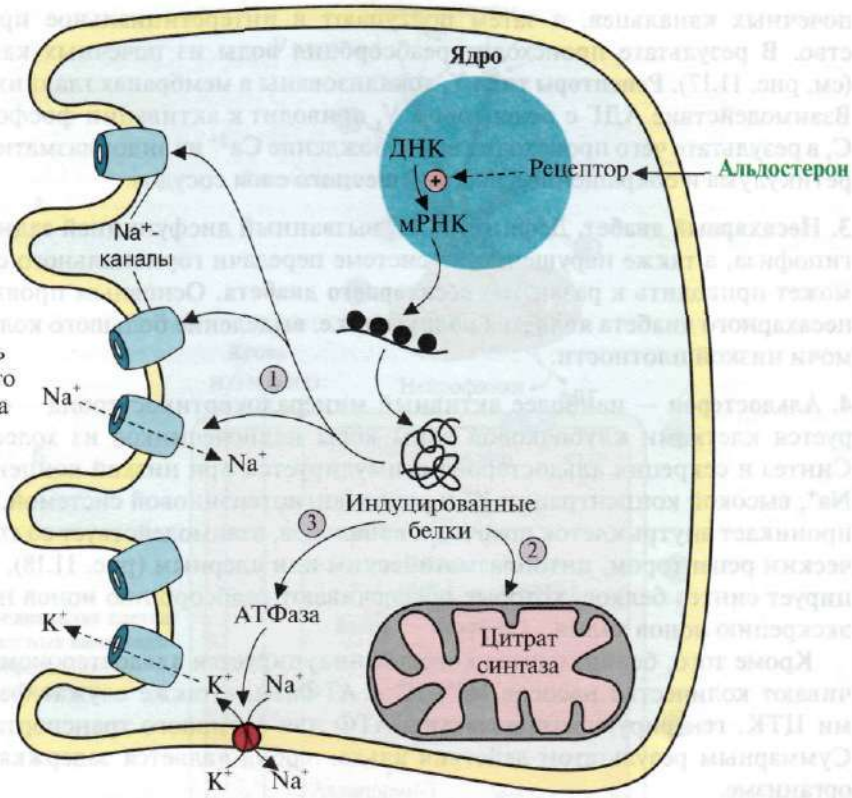


Рис. 11.18. Механизм действия альдостерона.

Альдостерон, взаимодействуя с внутриклеточными рецепторами, стимулирует синтез белков. Эти белки могут быть:
1 — компонентами натриевых каналов и увеличивать реабсорбцию Na^+ из мочи; 2 — ферментами ЦТК, активность которых обеспечивает продукцию АТР; 3 — Na^+, K^+ – АТФазой, насосом, который поддерживает низкую внутриклеточную концентрацию ионов натрия и высокую концентрацию ионов калия

высвобождения ренина. Этому способствует также снижение импульсации от барорецепторов предсердий и артерий в результате уменьшения внутрисосудистого объема жидкости. В результате увеличивается образование ангиотензина II и соответственно повышается в крови концентрация альдостерона, вызывая задержку ионов натрия. Это служит сигналом для осморецепторов гипоталамуса и секреции из нервных окончаний передней доли гипофиза АДГ, который стимулирует реабсорбцию воды из собирательных трубочек. Ангиотензин II, оказывая сильное сосудосуживающее действие, повышает артериальное давление, а также усиливает жажду. Поступающая с питьем вода в большей мере, чем это происходит в норме, задерживается в организме.

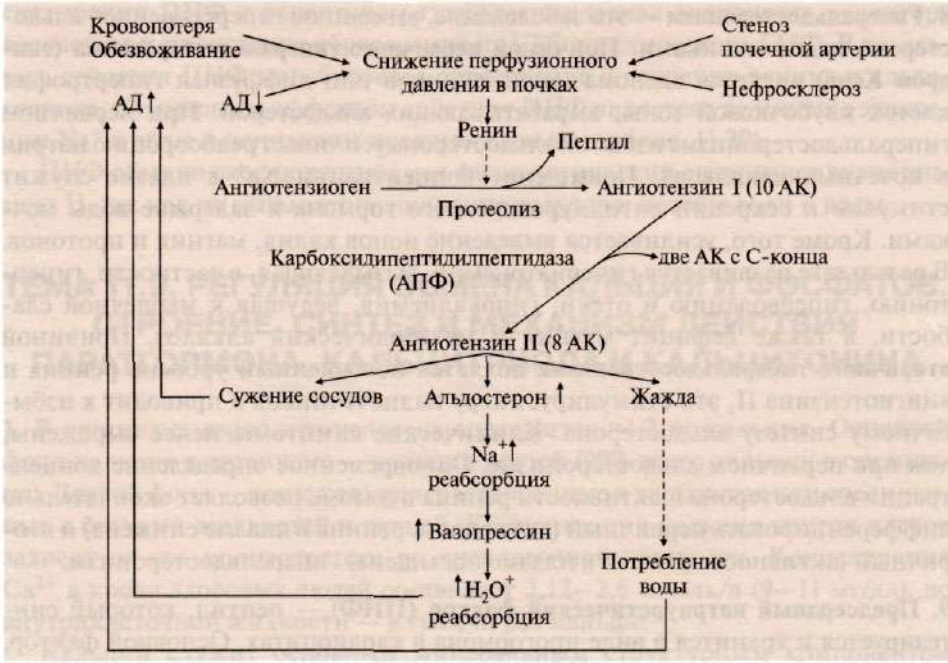


***Рис. 11.19.* Система ренин-ангиотензин-альдостерон.**

АПФ — ангиотензинпревращающий фермент (другое название карбоксипептидилдипептидаза)

- уменьшение объема жидкости и снижение артериального давления активируют систему ренин-ангиотензин-альдостерон;
- ангиотензин II вызывает кратковременное сужение сосудов и повышение кровяного давления;
- альдостерон стимулирует задержку натрия, вследствие чего происходит высвобождение вазопрессина и усиливается реабсорбция воды;
- ангиотензин II вызывает также чувство жажды, что способствует увеличению жидкости в организме

Увеличение объема жидкости и повышение кровяного давления приводит к устранению стимула, который вызвал активацию ренин-ангиотензиновой системы и секрецию альдостерона и, как результат, приводит к восстановлению объема крови.

7. Снижение перфузионного давления в почечных клубочках может наступить и вследствие сужения (стеноза) почечной артерии или нефросклероза. В этом случае также включается вся ренин-ангиотензиновая система. Но поскольку исходные объем и давление крови при этом нормальные, включение системы приводит к повышению кровяного давления сверх нормы и развитию так называемой **почечной гипертонии**.

8. Гиперальдостеронизм — это заболевание, вызванное гиперсекрецией альдостерона надпочечниками. Причиной **первичного гиперальдостеронизма (синдром Кона)** является аденома надпочечников или диффузная гипертрофия клеток клубочковой зоны, вырабатывающих альдостерон. При первичном гиперальдостеронизме избыток альдостерона усиливает реабсорбцию натрия в почечных канальцах. Повышение концентрации Na^+ в плазме служит стимулом к секреции антидиуретического гормона и задержке воды почками. Кроме того, усиливается выведение ионов калия, магния и протонов. В результате развивается гипернатриемия, вызывающая, в частности, гипертонию, гиперволемию и отеки; гипокалиемия, ведущая к мышечной слабости, а также дефицит магния и метаболический алкалоз. Причиной **вторичного гиперальдостеронизма** является повышенный уровень ренина и ангиотензина II, это стимулирует кору надпочечников и приводит к избыточному синтезу альдостерона. Клинические симптомы менее выражены, чем при первичном альдостеронизме. Одновременное определение концентрации альдостерона и активности ренина в плазме позволяет окончательно дифференцировать первичный (активность ренина в плазме снижена) и вторичный (активность ренина в плазме повышена) гиперальдостеронизм.

9. Предсердный натриуретический фактор (ПНФ) — пептид, который синтезируется и хранится в виде прогормона в кардиоцитах. Основной фактор, регулирующий секрецию ПНФ, — увеличение артериального давления. Основные клетки-мишени ПНФ — почки, надпочечники, периферические артерии. Рецептор ПНФ плазматической мембраны является каталитическим рецептором, обладающим активностью гуанилатциклазы. В результате

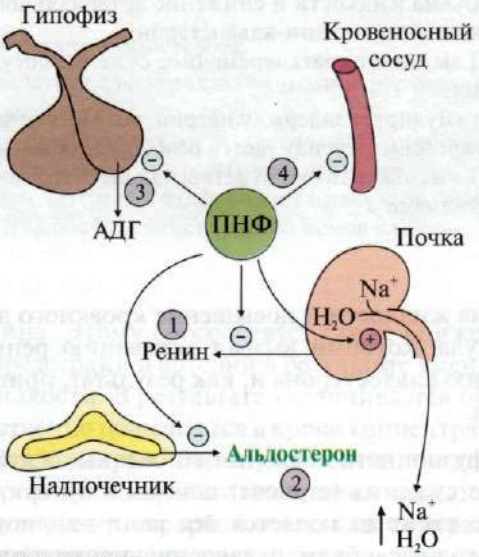


Рис. 11.20. Эффекты действия ПНФ:

1 — ингибирует выделение ренина; 2 — ингибирует секрецию альдостерона; 3 — ингибирует секрецию АДГ; 4 — вызывает релаксацию сосудов

связывания ПНФ с рецептором гуанилатциклазная активность рецептора возрастает и происходит образование из ГТФ циклического ГМФ. В результате действия ПНФ ингибируется образование и секреция ренина и альдостерона. Суммарным эффектом действия ПНФ является увеличение экскреции Na^+ и воды и понижение кровяного давления (рис. 11.20).

ПНФ обычно рассматривают как физиологический антагонист ангиотензина II, так как он вызывает расширение сосудов и потерю соли и воды.

ТЕМА 11.9. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА КАЛЬЦИЯ И ФОСФАТОВ. СТРОЕНИЕ, СИНТЕЗ И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ПАРАТГОРМОНА, КАЛЬЦИТРИОЛА И КАЛЬЦИТОНИНА

1. В организме взрослого человека содержится ≈1,2 кг кальция. Основной фонд кальция в организме — кальций костей (99% всего кальция в организме). Другой фонд — ионы кальция, растворенные в жидкостях или соединенные с белками жидкостей и тканей. Концентрация кальция внутри клеток зависит от его концентрации во внеклеточной жидкости. Концентрация Ca^{2+} в крови здоровых людей составляет 2,12—2,6 ммоль/л (9—11 мг/дл), во внутриклеточной жидкости — в тысячи раз меньше.

Кальций служит основным минеральным структурным компонентом костной ткани. Ионы кальция участвуют в мышечном сокращении, повышают проницаемость мембраны клеток для ионов калия, влияют на натриевую проводимость клеток, на работу ионных насосов, способствуют секреции гормонов, участвуют в каскадном механизме свертывания крови, служат важнейшими посредниками во внутриклеточной передаче сигналов.

Концентрация Ca^{2+} в плазме регулируется с высокой точностью: изменение ее всего на 1% приводит в действие гомеостатические механизмы, восстанавливающие равновесие. Основными регуляторами обмена Ca^{2+} в крови являются **паратгормон, кальцитриол** и **кальцитонин**.

2. Паратгормон синтезируется паращитовидными железами в виде препрогормона, который затем превращается в зрелый гормон путем частичного протеолиза. ПТГ секретируется в ответ на снижение концентрации кальция в крови. Основными органами-мишенями для гормона являются кости и почки (рис. 11.21).

Гормон инициирует каскад событий, связанный с аденилатциклазой остеобластов, которые стимулируют метаболическую активность остеокластов. Происходит мобилизация Ca^{2+} из кости и поступление фосфатов в кровь, а в дистальных канальцах почек стимулируется реабсорбция Ca^{2+} и уменьшается реабсорбция фосфатов, в результате чего восстанавливается нормальный уровень ионов кальция во внеклеточной жидкости.

3. Кальцитриол, как и другие стероидные гормоны, синтезируется из холестерола. Непосредственным предшественником кальциферола является холекальциферол (витамин D_3). Небольшое количество витамина D_3 содержится

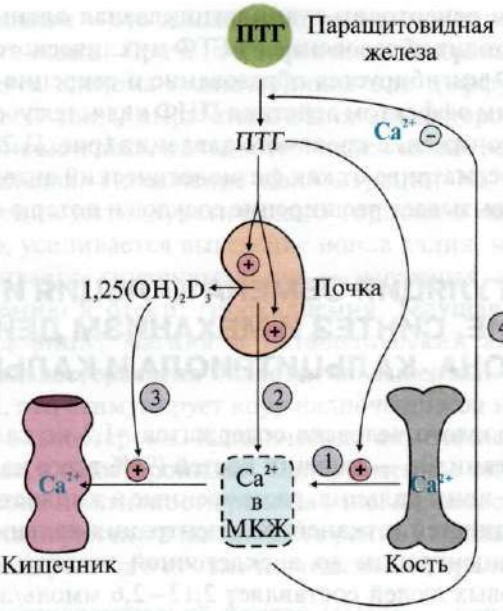


Рис. 11.21 Эффекты действия ПТГ:

1 — ПТГ стимулирует мобилизацию кальция из кости; 2 — ПТГ стимулирует реабсорбцию ионов кальция в дистальных канальцах почек; 3 — ПТГ активирует образование $1,25(OH)_2D_3$ в почках, что приводит к стимуляции всасывания Ca^{2+} в кишечнике

в продуктах питания, но большая часть витамина, используемого в синтезе кальцитриола, образуется в коже из 7-дегидрохолестерола в ходе неферментативной реакции под действием ультрафиолетового света. Образование кальцитриола из витамина D_3 начинается в печени и заканчивается в почках (рис. 11.22).

В печени холекальциферол гидроксилируется по 25-му атому углерода с образованием 25-гидроксихолекальциферола. Гидроксилирование, протекающее в почках под действием фермента 1α-гидроксилазы, является скорость лимитирующей стадией и приводит к образованию кальцитриола $1,25(OH)_2D_3$ — активной формы витамина D_3. Фермент этой реакции активируется низкой концентрацией в крови ионов Ca^{2+} и паратгормоном. Увеличение концентрации кальцитриола, напротив, тормозит синтез 1α-гидроксилазы почек, ингибируя образование гормона. Транспортируясь по крови в комплексе с белком-переносчиком, кальцитриол связывается с внутриклеточным рецептором, взаимодействует с хроматином и изменяет скорость трансляции. В результате в клетках-мишенях синтезируются белки, обеспечивающие всасывание кальция и фосфатов в энтероциты.

4. Кальцитонин — полипептид, состоящий из 32 аминокислотных остатков с одной дисульфидной связью. *Гормон секретируется парафолликулярными*

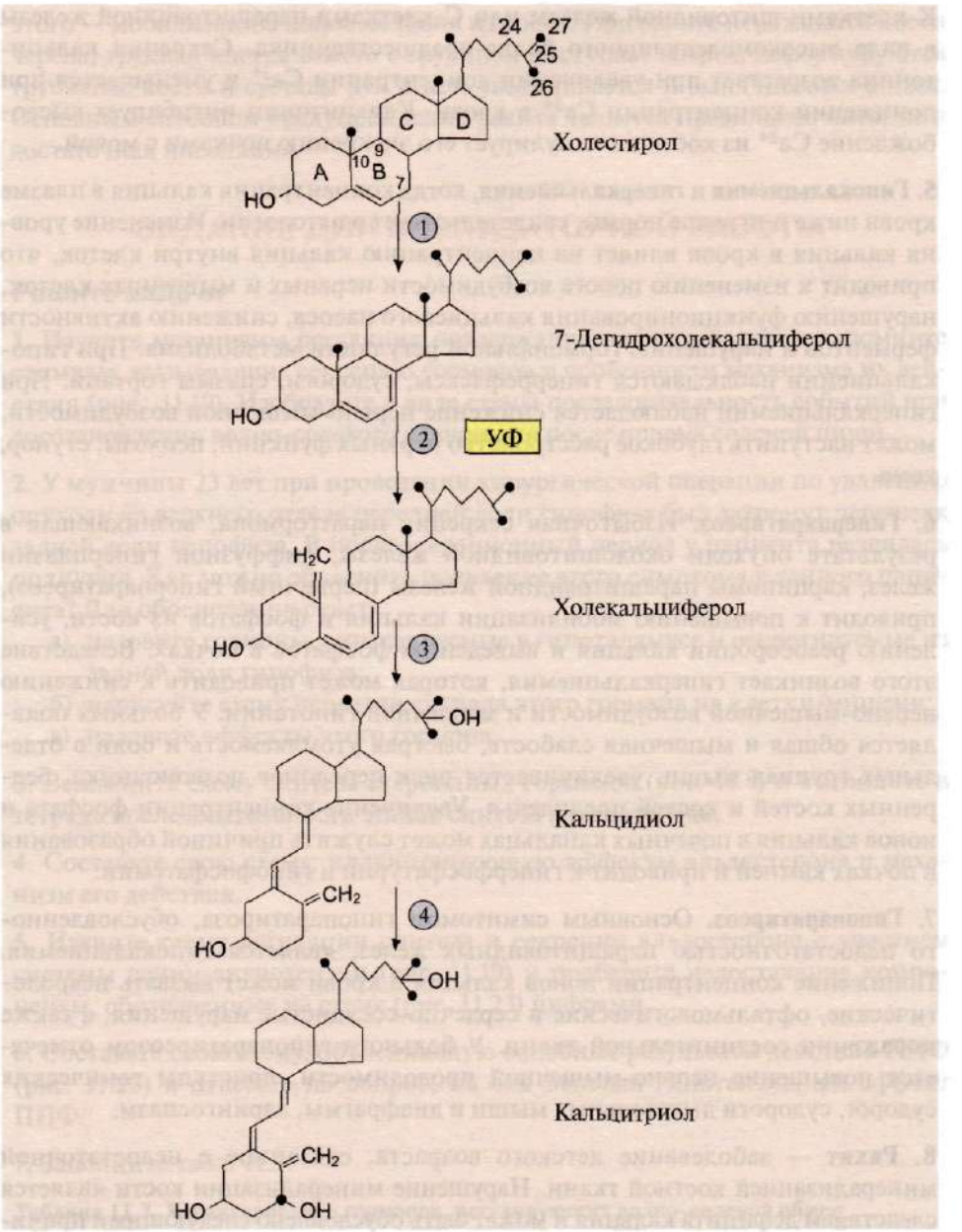


Рис. 11.22 Схема синтеза кальцитриола:

1 — холестерол является предшественником кальцитриола; 2 — в коже 7-дегидрохолестерол неферментативно под действием УФ-облучения превращается в холекальциферол; 3 — в печени 25-гидроксилаза превращает холекальциферол в кальцидиол; 4 — в почках образование кальцитриола катализируется 1α-гидроксилазой

К-клетками щитовидной железы или С-клетками паращитовидной железы в виде высокомолекулярного белка-предшественника. Секреция кальцитонина возрастает при увеличении концентрации Ca^{2+} и уменьшается при понижении концентрации Ca^{2+} в крови. Кальцитонин ингибирует высвобождение Ca^{2+} из кости и стимулирует его экскрецию почками с мочой.

5. Гипокальциемия и **гиперкальциемия**, когда концентрация кальция в плазме крови ниже или выше нормы, свидетельствует о патологии. Изменение уровня кальция в крови влияет на концентрацию кальция внутри клеток, что приводит к изменению порога возбудимости нервных и мышечных клеток, нарушению функционирования кальциевого насоса, снижению активности ферментов и нарушению гормональной регуляции метаболизма. При гипокальциемии наблюдаются гиперрефлексы, судороги, спазмы гортани. При гиперкальциемии наблюдается снижение нервно-мышечной возбудимости, может наступить глубокое расстройство нервных функций, психозы, ступор, кома.

6. Гиперпаратиреоз. Избыточная секреция паратгормона, возникающая в результате опухоли околощитовидной железы, диффузной гиперплазии желез, карциномы паращитовидной железы (первичный гиперпаратиреоз), приводит к повышению мобилизации кальция и фосфатов из кости, усилению реабсорбции кальция и выведению фосфатов в почках. Вследствие этого возникает гиперкальциемия, которая может приводить к снижению нервно-мышечной возбудимости и мышечной гипотонии. У больных появляется общая и мышечная слабость, быстрая утомляемость и боли в отдельных группах мышц, увеличивается риск переломов позвоночника, бедренных костей и костей предплечья. Увеличение концентрации фосфата и ионов кальция в почечных канальцах может служить причиной образования в почках камней и приводит к гиперфосфатурии и гипофосфатемии.

7. Гипопаратиреоз. Основным симптомом гипопаратироза, обусловленного недостаточностью паращитовидных желез, является гипокальциемия. Понижение концентрации ионов кальция в крови может вызвать неврологические, офтальмологические и сердечно-сосудистые нарушения, а также поражения соединительной ткани. У больного гипопаратиреозом отмечается повышение нервно-мышечной проводимости, приступы тонических судорог, судороги дыхательных мышц и диафрагмы, ларингоспазм.

8. Рахит — заболевание детского возраста, связанное с недостаточной минерализацией костной ткани. Нарушение минерализации кости является следствием дефицита кальция и может быть обусловлено следующими причинами: недостатком витамина D_3 в пищевом рационе, нарушением всасывания витамина D_3 в тонком кишечнике, снижением синтеза предшественников кальцитриола из-за недостаточного времени пребывания на солнце, дефектом 1α-гидроксилазы, дефектом рецепторов кальцитриола в клетках-мишенях. Все это вызывает снижение всасывания кальция в кишечнике и снижение его концентрации в крови, стимуляцию секреции паратгормона и вследствие

этого — мобилизацию ионов кальция из кости. При рахите поражаются кости черепа, грудная клетка вместе с грудиной выступает вперед, деформируются трубчатые кости и суставы рук и ног, увеличивается и выпячивается живот. Основным способом предупреждения рахита является правильное питание и достаточная инсоляция.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Изучите механизмы регуляция поддержания водного баланса, запомните стимулы, вызывающие секрецию гормонов и особенности механизма их действия (рис. 11.19). Изобразите в виде схемы последовательность событий при восстановлении водно-солевого равновесия после приема соленой пищи.

2. У мужчины 23 лет при проведении хирургической операции по удалению опухоли из верхнего отдела передней доли гипофиза был затронут перешеек задней доли гипофиза. В послеоперационный период у пациента развилась полиурия. Как можно объяснить появление этого симптома у данного пациента? Для обоснования ответа:

а) назовите гормоны, синтезируемые в гипоталамусе и секретируемые из задней доли гипофиза;
б) нарисуйте схему передачи сигнала этого гормона на клетки-мишени;
в) назовите эффекты этого гормона.

3. Вспомните схему синтеза стероидных гормонов (рис. 11.8) и выпишите в тетрадь последовательность этапов синтеза альдостерона.

4. Составьте свою схему, иллюстрирующую эффекты альдостерона и механизм его действия.

5. Изучите схему регуляции синтеза и секреции альдостерона с участием системы ренин-ангиотензин (рис. 11.19) и подберите недостающие компоненты, обозначенные на схеме (рис. 11.23) цифрами.

6. Составьте свою схему, объясняющую основные результаты действия ПНФ (рис. 11.20) и ответьте на вопрос, на чем основан гипотензивный эффект ПНФ.

7. Заполните табл. 11.3.

Таблица 11.3. Характеристика гормонов, регулирующих водно-солевой обмен

Гормон	Место синтеза	Стимулы	Механизм действия	Органы-мишени	Эффекты
1. АДГ					
2. Альдостерон					
3. ПНФ					

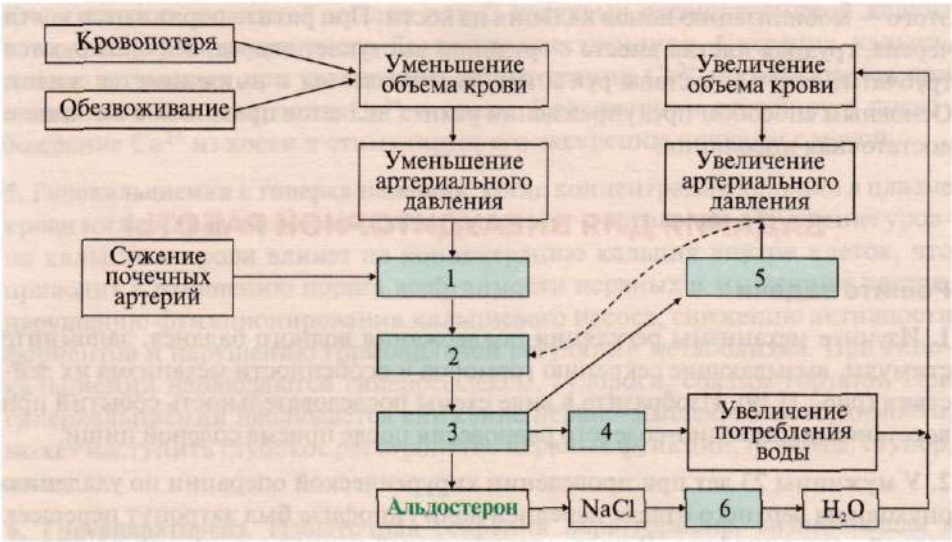


Рис. 11.23. Схема регуляции водно-солевого гомеостаза

8. Заполните табл. 11.4.

Таблица 11.4. Характеристика гормонов, регулирующих обмен кальция и фосфатов

Гормон	Место синтеза	Стимулы	Механизм действия	Органы-мишени	Эффекты
ПТГ					
Кальцитриол					
Кальцитонин					

9. Используя схему рис. 11.22, укажите все возможные причины рахита и представьте схему механизма передачи сигнала кальцитриола на клетки-мишени.

10. При гиповитаминозе D_3 нарушается процесс минерализации костей, уменьшается содержание в них кальция и фосфатов; концентрация Ca^{2+} в крови сохраняется в пределах нормы или несколько снижается. Составьте схему поддержания гомеостаза Ca^{2+} при гиповитаминозе D_3 и определите:

а) за счет каких источников поддерживается нормальная концентрация Ca^{2+} в крови в этом случае;

б) как изменится концентрация в крови кальцитонина и паратгормона.

11. Увеличение выведения кальция с мочой может быть причиной образования почечных камней, состоящих преимущественно из оксалата кальция. Назовите причины, по которым может увеличиваться выведение Ca^2.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильный ответ.

В ответ на повышение осмотического давления возрастает синтез и секреция гормона:

А. Альдостерона
Б. Кортизола
В. Вазопрессина
Г. Адреналина
Д. Глюкагона

2. Установите соответствие.

Место синтеза:

А. Печень
Б. Почки
В. Гипоталамус
Г. Надпочечники
Д. Поджелудочная железа

Метаболиты:

1. Вазопрессин
2. Альдостерон
3. Ренин

3. Установите соответствие:

А. Стимул для синтеза и секреции — образование ангиотензина II
Б. Стимул для секреции — повышение концентрации ионов натрия
В. Органы-мишени — периферические артерии
Г. Гиперпродукция гормона приводит к полиурии
Д. Место синтеза — печень

1. Вазопрессин
2. Альдостерон
3. Ангиотензиноген

4. Выберите правильные ответы.

Ангиотензин II:

А. Образуется в печени
Б. Является протеолитическим ферментом
В. Является субстратом ренина
Г. Стимулирует синтез альдостерона
Д. Стимулирует сужение сосудов

5. Выберите правильные ответы.

Кальцитриол:

А. Стимулирует реабсорбцию кальция в почках
Б. Является предшественником 7-дегидрохолестерола
В. Стимулирует реабсорбцию натрия в почках
Г. Увеличивает скорость всасывания кальция в кишечнике
Д. Стимулирует мобилизацию кальция из костей

6. Выберите правильные ответы.

Снижение концентрации Ca^{2+} в плазме крови вызывает:

А. Увеличение секреции паратгормона

Б. Ингибирование активности парафолликулярных клеток щитовидной железы

В. Гидроксилирование метаболитов витамина D_3

Г. Уменьшение экскреции кальция почками

Д. Повышение скорости резорбции кости

7. Выполните «цепное» задание:

а) в гипоталамусе синтезируется гормон:

А. Вазопрессин

Б. Адреналин

В. Альдостерон

Г. Кальцитриол

б) клетками-мишенями для данного гормона являются:

А. Клетки ЮГА

Б. Периферические артерии

В. Клетки собирательных трубочек и дистальных канальцев

Г. Клетки клубочка нефрона

в) связываясь с рецепторами этих клеток, он стимулирует:

А. Аденилатциклазную систему

Б. Фосфопротеинфосфатазу

В. Инозитолтрифосфатную систему

Г. Ренин-ангиотензиновую систему.

г) в результате активации этой системы увеличивается количество белка:

А. Альбумина

Б. Транспортеров натрия

В. Аквапорина-2

Г. Транспортера калия

д) этот белок обеспечивает увеличение реабсорбции:

А. Ионов калия

Б. Ионов кальция

В. Ионов натрия

Г. Воды

8. Выберите правильные ответы.

Паратгормон:

А. Транспортируется по крови в комплексе с белком-переносчиком

Б. Секреция регулируется концентрацией кальция в крови

В. Недостаточность гормона приводит к снижению концентрации Ca^{2+}

Г. Для проявления биологической активности необходима вся молекула гормона целиком

Д. Увеличивает эффективность всасывания воды в кишечнике

9. Выберите правильные ответы.

Вазопрессин:

А. Стимулирует повышение осмотического давления плазмы крови
Б. Активирует протеинкиназу С в почках
В. Стимулирует реабсорбцию воды в почках
Г. Снижает осмотическое давление плазмы крови
Д. Стимулирует экспрессию гена аквапорина-2

10. Установите соответствие:

А. Проявляет сосудосуживающий эффект
Б. Стимулирует реабсорбцию Na+
В. Взаимодействует с мембранными рецепторами клеток-мишеней
Г. Усиливает секрецию ренина
Д. Является протеолитическим ферментом

1. Альдостерон
2. Ангиотензин II
3. Ренин

11. Выберите все правильные ответы.

ПНФ:

А. Взаимодействует с мембранными рецепторами клеток-мишеней
Б. Активирует фосфолипазу С
В. Активирует гуанилатциклазу
Г. Подавляет секрецию альдостерона
Д. Увеличивает выведение воды и Na^+

12. Установите соответствие:

А. В почках
Б. В коже
В. В печени
Г. В мозге
Д. В кишечнике

1. Превращение 7-дегидрохолестерина в витамин D_3 путем неферментативного фотолиза
2. Образование 1,25 $(OH)_2D_3$ в монооксигеназной реакции с участием NADPH
3. Индукция синтеза кальций-связывающего белка

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. В
2. 1—В; 2—Г; 3—Б
3. 1—Б; 2—А; 3—Д
4. Г, Д
5. А, Г, Д
6. А, В, Г, Д
7. а) А, б) В, в) А, г) В, д) Г
8. Б, В
9. В, Г, Д
10. 1—Б; 2—А; 3—Д
11. А, В, Г, Д
12. 1 — Б; 2 — В; 3 — Д

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Водно-солевой гомеостаз
2. Несахарный диабет
3. Система ренин-ангиотензин-альдостерон
4. Гиперальдостеронизм
5. Гиперкальциемия
6. Гипокальциемия
7. Гипопаратиреоз
8. Гиперпаратиреоз
9. Рахит
10. ПНФ
11. АПФ

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Некоторые формы гипертонии возникают вследствие различных почечных нарушений, например при сдавлении опухолью почечной артерии. Основным методом лечения в подобных случаях является удаление пораженного органа (почки). Однако улучшение состояния больных отмечается при назначении больным препаратов, являющихся ингибиторами АПФ. Нарисуйте схему, отражающую изменение водно-солевого обмена при сдавлении почечной артерии. В результате каких изменений наступает улучшение состояния больных?

2. К врачу обратился пациент с жалобами на частое мочеиспускание и постоянное чувство жажды. При обследовании отмечено увеличение суточного объема мочи при резком снижении ее плотности. Проведенный анализ показал, что уровень инсулина в пределах нормы, но выявлено повышение содержание гормона, ответственного за реабсорбцию воды. Предположите причину полиурии у данного больного? Для ответа на вопрос:

а) назовите этот гормон;
б) перечислите стимулы, вызывающие его секрецию;
в) назовите типы рецепторов для этого гормона и места их локализации;
г) приведите схему передачи сигнала данного гормона в почках;
д) опишите эффекты гормона в тканях-мишенях;
е) приведите схему регуляции секреции этого гормона.

3. Мужчина 48 лет обратился к врачу с жалобами на слабость, мышечные боли, запоры и недавно появившиеся приступы болей в спине и при мочеиспускании. При обследовании больному поставлен диагноз: первичный гиперпаратиреоидизм как следствие развития гиперсекреторной доброкачественной опухоли левой доли паращитовидной железы.

Объясните, почему при гиперпаратироидизме может развиться почечнокаменная болезнь? При решении задачи используйте схемы к заданию 5.

4. К педиатру обратилась женщина с жалобами на то, что ее двухлетний сын стал капризным, раздражительным, плохо ест. Появилась потливость, стул неустойчивый. При осмотре установлена податливость костей черепа, деформация грудной клетки. В биохимическом анализе крови уровень общего кальция — 1,57 ммоль/л (норма 2,3—2,8 ммоль/л). Предположите, каким заболеванием страдает этот ребенок. Для этого:

а) сравните количество общего кальция в крови у ребенка с нормой, *дайте название этому состоянию*;

б) укажите возможные причины, которые могут привести к развитию данного заболевания;

в) приведите схему синтеза гормональной регуляции обмена кальция;

г) укажите механизм действия гормонов, причины и последствия их недостаточности в организме;

д) дайте рекомендации для дальнейшего обследования и лечения данного заболевания ребенка.

5. Изучите схему:

Причины и последствия гипопаратиреоидизма (рис. 11.24). Составьте аналогичные схемы для:

а) гиперпаратиреоидизма;

б) рахита

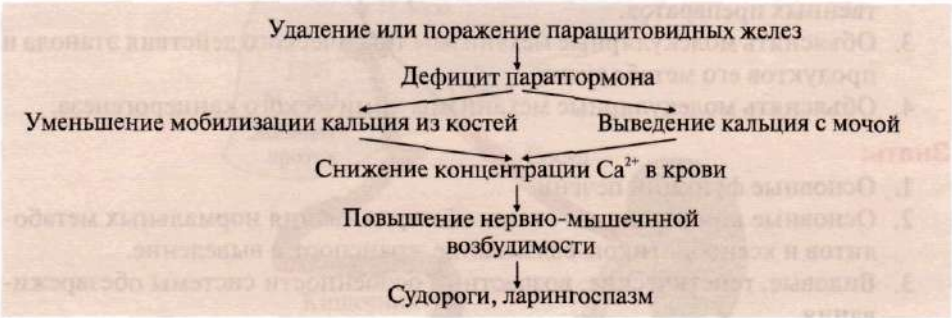


Рис. 11.24. Причины и последствия гипопаратиреоидизма

Модуль 12

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ПЕЧЕНИ

Темы
12.1. Механизмы обезвреживания токсических веществ
12.2. Обезвреживание продуктов катаболизма аминокислот в кишечнике
12.3. Биотрансформация лекарств
12.4. Метаболизм и обезвреживание этанола
12.5. Химический канцерогенез

Цели изучения

Уметь:

1. Объяснять молекулярные механизмы детоксикационной функции печени на примерах обезвреживания нормальных метаболитов и ксенобиотиков.
2. Объяснять молекулярные механизмы трансформации лекарственных веществ, явления привыкания к лекарствам, индивидуальную чувствительность к ним, прогнозировать последствия применения лекарственных препаратов.
3. Объяснять молекулярные механизмы токсического действия этанола и продуктов его метаболизма.
4. Объяснять молекулярные механизмы химического канцерогенеза.

Знать:

1. Основные функции печени.
2. Основные компоненты и этапы обезвреживания нормальных метаболитов и ксенобиотиков: связывание, транспорт и выведение.
3. Видовые, генетические, возрастные особенности системы обезвреживания.
4. Метаболизм этанола и его действие на организм.
5. Основы метаболизма лекарственных препаратов.
6. Основы химического канцерогенеза.

ТЕМА 12.1. МЕХАНИЗМЫ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Соединения, поступающие в организм с пищей, через кожу или легкие и не используемые организмом для энергетических и пластических целей, называются чужеродными веществами или **ксенобиотиками**. Они,

как правило, гидрофобны, токсичны и должны удаляться из организма. Для снижения их токсичности и повышения растворимости они подвергаются детоксикации, которая заключается в их химической модификации, и удаляются из организма (рис. 12.1). Обезвреживанию подвергаются также токсические вещества, образующиеся в организме: NH_3, пептидные и стероидные гормоны, катехоламины, продукты катаболизма гема, продукты гниения аминокислот в кишечнике. Лекарственные вещества в редких случаях используются организмом в качестве субстратов, большая их часть, выполнив свою функцию, которая заключается во взаимодействии с белками или ферментами, должны быть удалены из организма. Они могут, в зависимости от их структуры, выводиться из организма как в неизмененном виде, так и в модифицированном.

Обезвреживание токсических веществ происходит путем химической модификации в две фазы:

- в реакциях первой фазы гидрофобное вещество модифицируется, причем чаще всего происходит его гидроксилирование;
- во вторую фазу происходит реакция конъюгации.

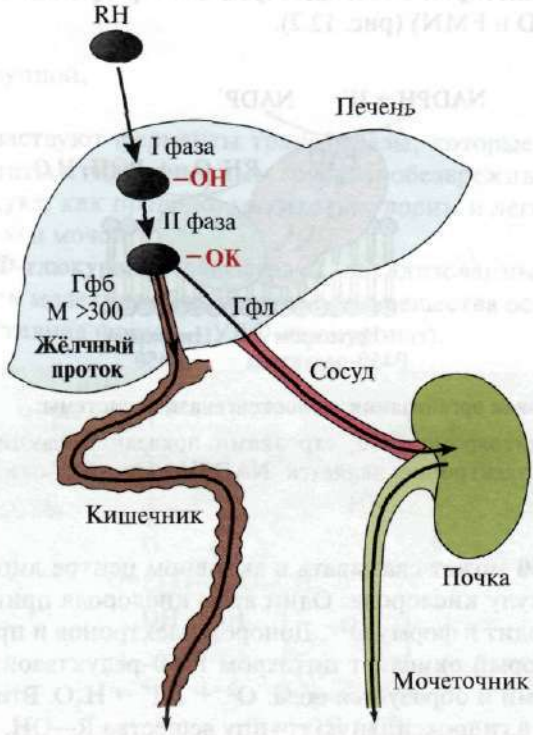


Рис. 12.1. Метаболизм и выведение ксенобиотиков из организма:

Ксб — ксенобиотик; К — радикал, используемый при конъюгации (глутатион, глюкуронил и др.); *Гфб — гидрофобные и Гфл — гидрофильные метаболиты ксенобиотиков*; М — молекулярная масса

Первая фаза обезвреживания

Эта фаза обязательна для гидрофобных веществ, так как они плохо выводятся из организма и могут накапливаться в тканях, богатых липидами (жировая клетчатка, мембраны клеток, нервная система). В этой фазе вещества подвергаются таким изменениям, как гидроксилирование, восстановление, сульфоокисление, дезаминирование, гидролиз и др.

В мембранах эндоплазматического ретикулума (ЭР) практически всех тканей локализована система микросомального (монооксигеназного) окисления (СМО), отвечающая за течение первой фазы обезвреживания. В эксперименте при выделении ЭР из клеток мембрана распадается на части, каждая из которых образует замкнутый пузырек — микросому. Микросомы сохраняют большинство морфологических и функциональных характеристик интактных мембран ЭР, в частности, они содержат активные ферменты, участвующие в реакциях обезвреживания. Эта система наиболее активна в печени. В клетках некоторых тканей (например, кора надпочечников) окислительная система локализована в мембранах митохондрий.

Основные ферменты, участвующие в работе окислительной системы: гемопротеин — **цитохром P450**, **цитохром P450-редуктаза** — флавопротеин (коферменты FAD и FMN) (рис. 12.2).

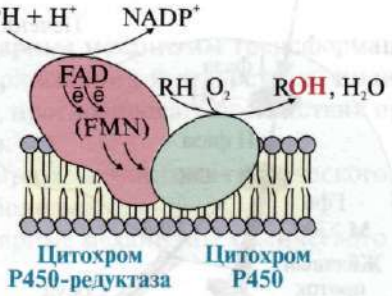


Рис. 12.2. Структурная организация монооксигеназной системы:

RH — субстрат цитохрома P450; стрелками показаны реакции переноса электронов. Донором электронов является NADPH, который окисляется цитохром P450-редуктазой

Цитохром P450 может связывать в активном центре липофильное вещество RH и молекулу кислорода. Один атом кислорода принимает два электрона 2ē и переходит в форму O^{2-}. Донором электронов и протонов является **NADPH+H⁺**, который окисляет цитохром P450-редуктазой; O^{2-} взаимодействует с протонами и образуется вода: $O^{2-} + 2H^+ \rightarrow H_2O$. Второй атом кислорода включается в гидроксильную группу вещества R—OH.

Суммарное уравнение реакции гидроксилирования вещества RH ферментами микросомального окисления

$$RH + O_2 + [NADPH + H^+] \rightarrow ROH + H_2O + NADP^+.$$

В результате гидроксилирования повышается растворимость гидрофобного соединения, что снижает его токсичность и облегчает дальнейшую инактивацию и выведение из организма.

Цитохром Р450 обладает относительной субстратной специфичностью. Известно много изоформ Р450, каждая из них может взаимодействовать с разными, но сходными по строению ксенобиотиками. Субстратами Р450 могут быть как экзо-, так и эндогенные липофильные вещества, а продукты их превращений могут входить в пути нормального метаболизма. Цитохромы Р450 участвуют в биотрансформации многих лекарств, которые, будучи гидрофобными, не могут быть выведены из организма в неизменном виде.

Вторая фаза обезвреживания — коньюгация

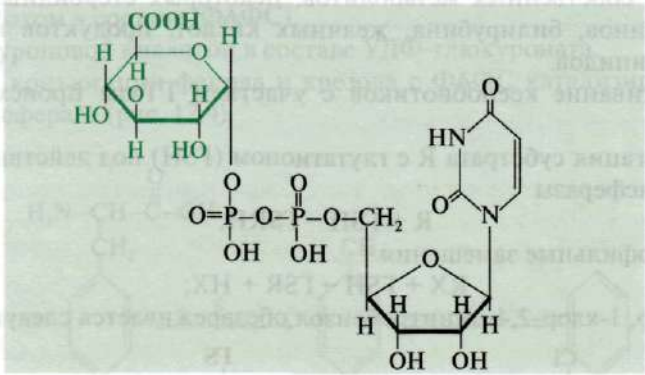
Конъюгация — это присоединение к функциональным группам, образовавшимся в первой фазе или уже имеющимся у ксенобиотиков, других молекул или групп, увеличивающих гидрофильность и уменьшающих их токсичность.

Конъюгация может происходить с:

- глицином,
- глюкуронатом,
- сульфатом,
- ацетататом,
- метильной группой,
- глутатионом.

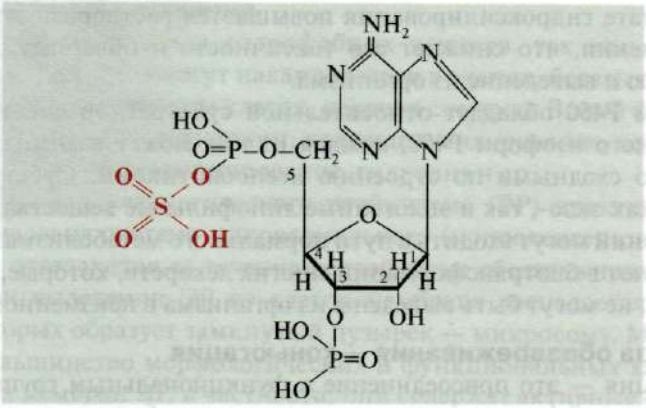
В этой фазе участвуют ферменты трансферазы, которые присоединяют различные конъюгаты к гидрофильным группам обезвреживаемых веществ. Полученный продукт, как правило, хорошо растворим и легко удаляется из организма с желчью и мочой.

Например, **УДФ-глюкуронилтрансферазы**, локализованные в основном в ЭР, присоединяют к молекуле обезвреживаемого вещества остаток глюкуроновой кислоты (активная форма — УДФ-глюкуронат).



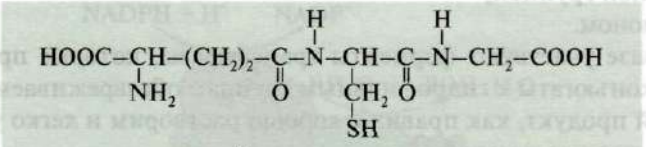
Реакция в общем виде: ROH + УДФ-$C_6P_9O_6$ = RO-$C_6P_9O_6$ + УДФ.

Цитоплазматические **сульфотрансферазы** катализируют присоединение остатка серной кислоты (активная форма — ФАФС — фосфоаденозинфосфосульфат).



Реакция в общем виде: ROH + ФАФ-SO_3H = RO-SO_3H + ФАФ.

Особое место среди ферментов, участвующих в обезвреживании ксенобиотиков, нормальных метаболитов, лекарств, занимают **глутатионтрансферазы** (ГТазы). Известно множество изоферментов ГТазы с различной субстратной специфичностью. Для работы ферментов требуется глутатион (ГSH). Глутатион — это трипептид глу-цис-гли, остаток глутаминовой кислоты присоединен к цистеину карбоксильной группой радикала.



Глутатион

ГТазы — универсальные ферменты, функционирующие у всех животных и человека, и имеющиеся во всех тканях. ГТазы играют важную роль в обезвреживании собственных метаболитов: некоторых стероидных гормонов, простагландинов, билирубина, желчных кислот, продуктов перекисного окисления липидов.

Обезвреживание ксенобиотиков с участием ГТазы происходит тремя путями:

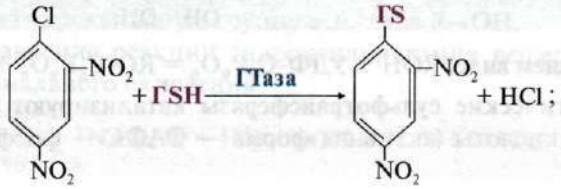
1) конъюгация субстрата R с глутатионом (ГSH) под действием глутатионтрансферазы

$$R + ГSH \rightarrow ГSRH;$$

2) нуклеофильные замещения

$$RX + ГSH \rightarrow ГSR + HX;$$

Например, 1-хлор-2,4-динитробензол обезвреживается следующим образом:



3) восстановление органических пероксидов до спиртов под действием глутатионпероксидазы:

$$R{-}HC{-}O{-}OH + 2\,ГSH \rightarrow R{-}HC{-}OH + ГSSГ + H_2O.$$

–OOH — гидроперекисная группа, ГSSГ — окисленный глутатион.

Обезвреживание ксенобиотиков с участием цитохрома P450 иногда приводит к образованию метаболитов не менее, а более токсичных, чем исходные. Эти токсические вещества обезвреживаются глутатионтрансферазой (ГТазой).

ГТаза — индуцируемый фермент, его синтез индуцируется при приеме этанола, снотворных препаратов — производных барбитуровой кислоты и т.д.

ТЕМА 12.2. ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ПРОДУКТОВ КАТАБОЛИЗМА АМИНОКИСЛОТ В КИШЕЧНИКЕ

Аминокислоты, не всосавшиеся в клетки кишечника, используются микрофлорой толстой кишки. Ферменты микроорганизмов расщепляют аминокислоты и превращают их в амины, фенолы, индол, скатол, сероводород и другие, токсичные для организма соединения. Этот процесс называют гниением белков в кишечнике. В основе его лежат реакции декарбоксилирования и дезаминирования аминокислот. Продукты гниения частично всасываются в нижних отделах тонкой кишки и с током крови поступают в печень и другие ткани, где могут оказывать токсическое действие.

1. Образование и обезвреживание *п*-крезола и фенола. Под действием ферментов бактерий из аминокислоты тирозина могут образовываться фенол или крезол путем отщепления боковых цепей (рис. 12.3).

Часть этих соединений попадает в кровоток и по воротной вене поступает в печень, где подвергаются конъюгации двух видов:

- *с сульфатом в составе (ФАФС),*
- с глюкуроновой кислотой в составе УДФ-глюкуроната.

Реакции конъюгации фенола и крезола с ФАФС катализирует фермент сульфотрансфераза (рис. 12.4).

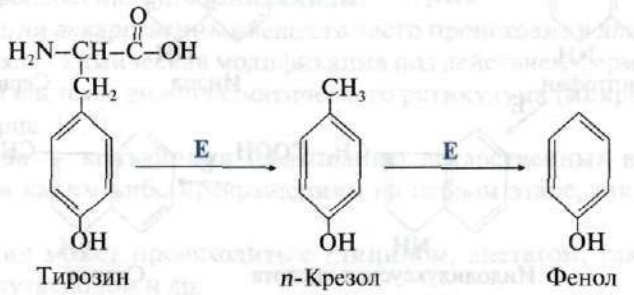


Рис. 12.3. Катаболизм тирозина под действием бактерий:

E — бактериальные ферменты

Рис. 12.4. Конъюгация фенола и крезола с ФАФС:

E — сульфотрансфераза

Конъюгация фенола и крезола с глюкуроновой кислотой происходит при участии фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы. Продукты конъюгации — фенолглюкуронат и крезолглюкуронат хорошо растворимы в воде и выводятся с мочой. Повышение количества конъюгатов глюкуроновой кислоты с фенолом и крезолом в моче обнаруживается при усилении гниения белков в кишечнике.

2. Образование и обезвреживание индола и скатола. В кишечнике из аминокислоты триптофан микроорганизмы образуют индол и скатол. Бактерии отщепляют карбоксильную и α-амино-группу триптофана, оставляя нетронутым гетероциклический радикал. Индол образуется в результате отщепления бактериями боковой цепи с образованием серина или аланина (рис. 12.5).

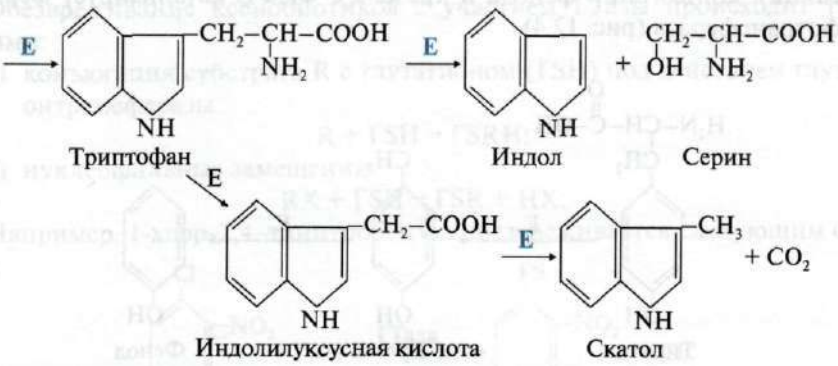


Рис. 12.5. Катаболизм триптофана под действием бактерий:

E — бактериальные ферменты

Скатол и индол обладают гидрофобными свойствами и обезвреживаются в печени в два этапа:

– сначала в результате микросомального окисления они приобретают гидроксильную группу, индол превращается в индоксил;
– затем индоксил вступает в реакцию конъюгации с ФАФС, образуя индоксилсерную кислоту, калиевая соль которой получила название животного индикана. Анализ последнего в моче использовали для оценки детоксикационной функции печени (рис. 12.6).

Рис. 12.6. Участие сульфотрансферазы в обезвреживании индола:
E — сульфотрансфераза

ТЕМА 12.3. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ЛЕКАРСТВ

Действие на организм большинства лекарств должно быть строго дозировано и прекращается через определенное время после их приема. Прекращение действия может быть результатом выведения лекарства из организма в неизменном виде (что характерно для гидрофильных соединений) или лекарственные препараты подвергаются химической модификации (биотрансформации) и в виде продуктов экскретируются из организма.

Результатом биотрансформации лекарственных веществ являются:

1) инактивация лекарственных веществ, т.е. **снижение их фармакологической активности** (фенобарбитал, нитриты, эфедрин и др.);
2) **повышение активности** лекарственных веществ (бутадион, метилдофа, норморфин, ловастатин и др.);
3) появление **метаболитов**, оказывающих токсическое действие на организм (фенацетин, сульфаниламиды).

Инактивация лекарственных веществ часто происходит в два этапа.

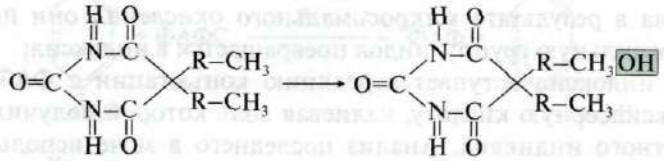
Первый этап — химическая модификация под действием ферментов монооксигеназной системы эндоплазматического ретикулума (микросомального окисления) (рис. 12.7).

Второй этап — конъюгация (связывание) лекарственных веществ (как подвергшихся каким-либо превращениям на первом этапе, так и нативных препаратов).

Конъюгация может происходить с глицином, ацетатом, глюкуронатом, сульфатом, глутатионом и др.

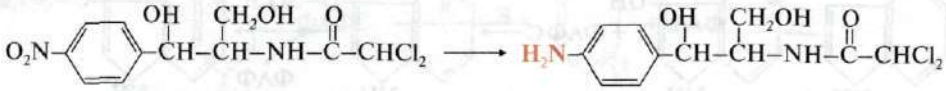
Глицин может присоединяться по карбоксильной группе, глюкуроновая кислота по ОН-группе, а ацетильный остаток ацетил-КоА по NH_2-группе.

а) окисление RH → ROH



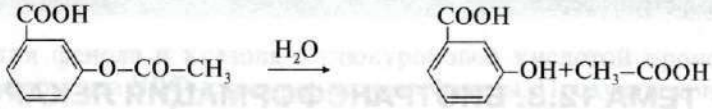
Барбитурат

б) восстановление нитросоединений $RNO_2 \rightarrow RNH_2$



Левомицетин

в) гидролиз – катализируют гидролазы разных тканей (печень, почки, кишечник, плазма)



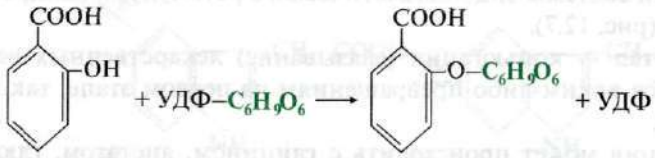
Аспирин (ацетилсалициловая кислота) Салициловая кислота

Рис. 12.7. Варианты химических модификаций:

а — окисление RH → ROH; б — восстановление нитросоединений $RNO_2 \rightarrow RNH_2$; в — гидролиз

Реакции конъюгации катализируют соответствующие ферменты класса трансфераз (рис. 12.8).

Дозы некоторых лекарств при систематическом приеме необходимо увеличивать, так как их действие на организм ослабляется. Это происходит потому, что эти лекарства, как и другие чужеродные соединения, индуцируют синтез ферментов монооксигенезной системы и реакций конъюгации.



Салициловая кислота Глюкуронилсацилат

Рис. 12.8. Конъюгация УДФГК с салициловой кислотой

Это обстоятельство лежит в основе привыкания к лекарственным препаратам и некоторым ядам. Кроме того, особое значение имеет широкая субстратная специфичность ферментов системы обезвреживания. В настоящее время известно несколько тысяч соединений, которые могут модифицироваться в организме при участии этой системы.

ТЕМА 12.4. МЕТАБОЛИЗМ И ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ЭТАНОЛА

Этанол может синтезироваться в организме человека или поступает с пищей. Эндогенный этиловый спирт содержится в крови в концентрации 0,0004 до 0,001 г/л. Источниками этанола являются:

- превращение глюкозы: Глюкоза → Пируват → Ацетальдегид → Этанол;
- спиртовое брожение углеводов микрофлорой кишечника и дыхательных путей.

Источником экзогенного этанола для человека служат спиртные напитки и даже некоторые пищевые продукты (соки, кефир, хлеб). Экзогенный этанол быстро всасывается в желудке (20—30%) и в тонком кишечнике (70—80%), достигая через 30—60 минут максимальной концентрации в крови. Метаболизм (окисление) этанола начинается уже в слизистой оболочке рта и продолжается во многих органах, но главным образом в печени (до 70—95% окисляемого этанола).

Возможные реакции окисления этанола и ацетальдегида представлены ниже. *При малых и умеренных дозах этанол окисляется с участием NAD-зависимых ферментов* (рис. 12.9).

$$\underset{\text{Этанол}}{CH_3{-}CH_2{-}OH} + NAD^+ \xrightleftharpoons{\text{Алкогольдегидрогеназа}} \underset{\text{Ацетальдегид}}{CH_3{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle H}{|}}{C}}} + NADH + H^+$$

$$\underset{\text{Ацетальдегид}}{CH_3{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle H}{|}}{C}}} + NAD^+ + H_2O \xrightarrow{\text{Ацетальдегиддегидрогеназа}} \underset{\text{Уксусная кислота}}{CH_3{-}COOH} + NADH + H^+$$

Рис. 12.9. Окисление этанола с участием NAD-зависимых дегидрогеназ

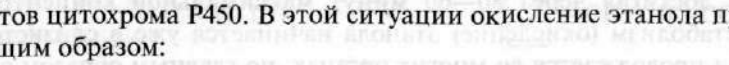
Уксусная кислота превращается в ацетил-КоА, который является конечным *продуктом метаболизма этанола. Ацетил-КоА окисляется в цитратном* цикле до CO_2, а при его избытке у больных, страдающих хроническим алкоголизмом, используется в печени для синтеза жирных кислот, жира и холестерина. Около 10% экзогенного этанола выводится в неизменном виде с выдыхаемым воздухом, мочой, потом.

Биологические эффекты этанола неспецифичны и многогранны: физико-химические, мембранотропные, метаболические, наркотические, токсические и канцерогенные. *Этанол как амфифильное вещество усиливает*

проницаемость гематоэнцефалического барьера для других веществ, проникает в мозг, нарушает структуру и функции мембран и вызывает изменение метаболизма практически во всех органах. Однако еще более выраженное токсическое действие оказывает продукт метаболизма этанола — ацетальдегид.

Ацетальдегид способен взаимодействовать с функциональными группами (NH_2, SH, OH) белков, ферментов, рецепторов, глутатиона, нарушая их функции, что может вызывать рак полости рта, глотки и мочевых путей. Ацетальдегид ингибирует NADH-дегидрогеназу и снижает способность гемоглобина переносить кислород, что приводит к нарушению энергетического обмена и синтеза АТФ. При хроническом алкоголизме ацетальдегид вступает в реакции с дофамином и серотонином, образуя алкогольные опиоиды, реагирующие с опиатными рецепторами и являющиеся факторами развития алкогольной эйфории и влечения к алкоголю. Один из таких опиоидов выделяется с мочой и служит клинико-биохимическим маркером систематического употребления алкоголя.

При употреблении больших количеств этанола (для барбитуратов есть свой P450) индуцируется особая **микросомальная этанолокисляющая система (МЭОС)**, в которой главную роль играет цитохром P450 II E1 — один из изоферментов цитохрома P450. В этой ситуации окисление этанола происходит следующим образом:



$$C_2H_5OH + NADPH + H^+ + O_2 \rightarrow CH_3CHO + NADP^+ + 2H_2O.$$

Ацетальдегид далее окисляется ацетальдегиддегидрогеназой (кофермент FAD).

Кроме того, цитохром P450 II E1 катализирует образование активных (токсических) форм кислорода, которые стимулируют перекисное окисление липидов и вызывают повреждения мембран многих органов.

Цитохром P450 II E, как и другие цитохромы P450, не обладает абсолютной специфичностью и может с меньшей скоростью катализировать реакции с другими веществами, в том числе лекарствами, вызывая их биотрансформацию. У лиц, страдающих алкоголизмом, этанол увеличивает активность «своего» цитохрома P450 по отношению к этанолу путем индукции. И поэтому из-за относительной специфичности этого фермента биотрансформация лекарственных веществ протекает также более активно и эффективность действия принимаемых препаратов снижается. В результате окисления этанола и ацетальдегида алкогольдегидрогеназой и ацетальдегиддегидрогеназой, повышается содержание NADH, который вызывает разнообразные метаболические эффекты: лактоацидоз, угнетение глюконеогенеза, гипогликемию, снижение активности ферментов цитратного цикла и нарушение энергетического обмена.

Последствием воздействия этанола и ацетальдегида являются нарушения обмена белков, липидов, углеводов, биогенных аминов, нейропептидов, а также заболевания внутренних органов (висцеральный алкоголизм) и поражение нервной системы с формированием алкогольной зависимости и алкогольной толерантности к этанолу.

ТЕМА 12.5. ХИМИЧЕСКИЙ КАНЦЕРОГЕНЕЗ

1. В основе химического канцерогенеза лежат повреждения ДНК под действием химических **канцерогенов**. Полициклические ароматические углеводороды, ароматические амины (например, 2-нафтиламин), нитрозамины, которые содержатся в каменноугольной смоле, табачном дыме, в загрязненном воздухе больших городов и в пищевых продуктах, подвергнутых обжариванию на углях или копчению, не являются канцерогенами, но превращаются в них, подвергаясь «обезвреживанию» в печени ферментами монооксигеназной системы. Наиболее часто встречающиеся проканцерогены приведены в табл. 12.1.

Таблица 12.1. Некоторые химические канцерогены

Класс соединений	Представители	Источники
Полициклические ароматические углеводороды	Бензантрацен, метилхолантрен, диметилбензантрацен	Выхлопные газы, продукты горения, сигаретный дым, коксохимическое производство
Ароматические амины	Метиламинобензол нафтиламин	Производство красителей
Диоксины	Тетрахлорбензодиоксин	Производство дефолиантов и ростовых веществ, целлюлозобумажная промышленность, хлорирование воды, горящие свалки
Микотоксины	Афлатоксин B1	Плесневые грибы
Нитрозамины	Диметилнитрозоамин, диэтилнитрозоамин	Образуются при употреблении нитратсодержащих продуктов

Известны сотни генов (протоонкогены), мутации в которых могут способствовать превращению нормальной клетки в опухолевую. **Протоонкоген** — ген, содержащий информацию о белке, регулирующем нормальную пролиферацию клеток, и способный в результате изменения структуры превращаться в онкоген. **Онкоген** — ген, экспрессия которого приводит к неконтролируемой пролиферации клеток. Для превращения протоонгкогена в онкоген требуются определенные изменения в его регуляторной или структурной части.

Канцерогенами могут быть как органические, так и неорганические молекулы, т.е. канцерогенность не связана с какой-либо определенной структурной особенностью.

Например, полициклический углеводород бензантрацен в организме подвергается гидроксилированию, в качестве промежуточного продукта образуется эпоксид, который является канцерогеном.

Ковалентная модификация гуанина в ДНК под действием нитрозаминов (образование N_7-метилгуанина или O_6-метилгуанина) приводит к разрыву водородной связи между G-C в цепях ДНК и последующему изменению первичной структуры ДНК и нарушению взаимодействия ДНК с белками.

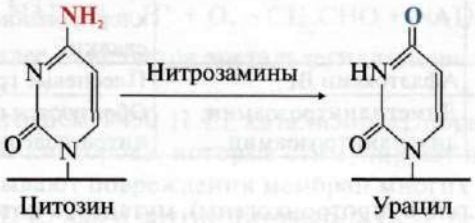
Канцерогеном неорганической природы могут быть нитраты в высоких концентрациях. Эти соединения широко распространены в воде и почве, попадая туда из различных источников, в том числе в составе удобрений. В организм человека поступают с пищей (молоко, консервы, фрукты, овощи) и в виде лекарств. Нитраты и особенно нитриты являются сильными окислителями. В процессе метаболизма азот нитратов присоединяет в ходе последовательных реакций восьми электронов. Промежуточные продукты этих реакций могут участвовать в реакциях окисления

$$\overset{+5}{HNO_3} \xrightarrow{+2\bar{e}} \overset{+3}{HNO_2} \xrightarrow{+1\bar{e}} \overset{+2}{NO} \xrightarrow{+1\bar{e}} \overset{+1}{HNO} \xrightarrow{+2\bar{e}} \overset{-1}{NH_2OH} \xrightarrow{+2\bar{e}} \overset{-3}{NH_3}.$$

Нитраты, Нитриты, Окись азота, Нитроксил, Гидроксиламин, Аммиак

Окисляемыми субстратами могут быть все железосодержащие гемопротеины: Hb, цитохромы ЦПЭ, цитохромы монооксигеназной системы эндоплазматического ретикулума.

В организме из азотистой кислоты (HNO_2) и вторичных аминов структуры R_2NH образуются нитрозамины $R_2N\text{-}N{=}O$, которые являются достаточно сильными мутагенами, вызывая алкилирование (например, метилирование) азотистых оснований ДНК. Нитриты превращают также остаток цитозина в цепи ДНК в урацил, и пара GC превращается в UC.



В ходе репликации мутантной ДНК U образует комплементарную пару UA, которая в ходе следующей репликации преобразуется в пару AT. Если мутация произошла в протоонкогене белка, ответственного за регуляцию клеточного цикла, то это может привести к нарушению его структуры, неконтролируемому делению клеток и развитию опухоли.

Нитраты и промежуточные продукты их превращений снижают активность некоторых ферментов антиоксидантной защиты, что приводит к накоплению активных форм кислорода и активации перекисного окисления липидов.

Ароматические амины. Ароматические амины — это вещества, которые используются в производстве анилиновых красителей и резиновой промышленности, одно из этих веществ — 2-нафтиламин — в печени в ходе первой фазы обезвреживания превращается в канцероген — 2-амино-1-нафтол. Однако в печени он быстро конъюгирует с ФАФС и превращается в нейтральный продукт. При выведении с мочой часть конъюгатов гидролизуется, в результате чего снова образуется канцероген, который может со временем вызвать развитие рака мочевого пузыря (рис. 12.10).

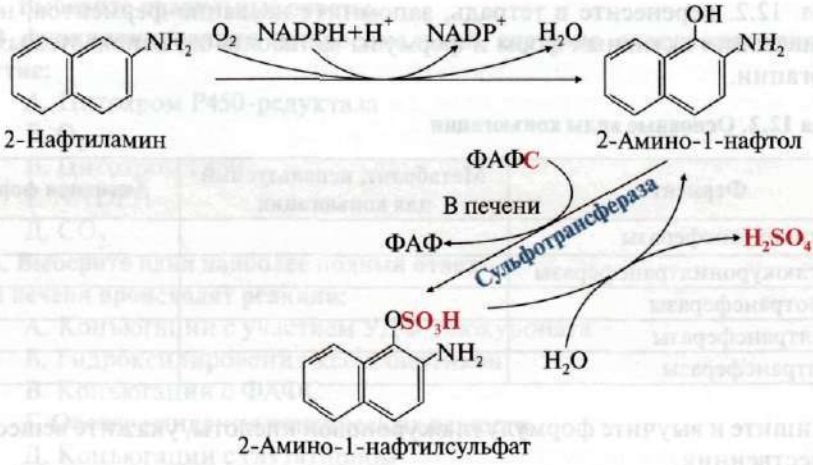


Рис. 12.10. Метаболизм 2-нафтиламина

Афлатоксины — это метаболиты некоторых видов плесневых грибов, например *Aspergillus flavus*, которые развиваются при неправильном хранении зерновых продуктов, круп и орехов. Афлатоксин B_1 в результате химической модификации превращается в печени в эпоксид, который является концерогеном и вызывает развитие рака печени (рис. 12.11).

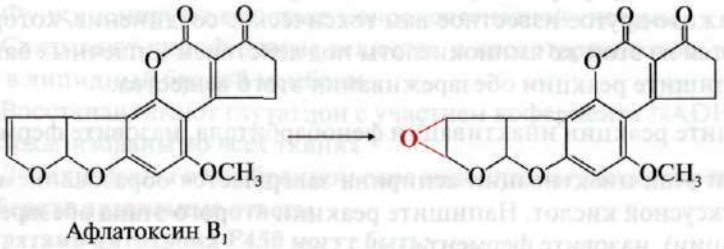


Рис. 12.11. Окисление афлатоксина B_1

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. На химическом предприятии произошло испарение небольших количеств бензола, который вместе с вдыхаемым воздухом попал в организм нескольких рабочих. Опишите механизмы, с помощью которых организм будет избавляться от токсических веществ. Для этого:

а) укажите фазы обезвреживания токсических веществ;

б) напишите реакции обезвреживания бензола, назовите ферменты и коферменты.

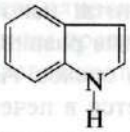
2. Табл. 12.2. перенесите в тетрадь, запомните название ферментов, напишите названия активных форм и формулы метаболитов, используемых для конъюгации.

Таблица 12.2. Основные виды конъюгации

Фермент	Метаболит, используемый для конъюгации	Активная форма
Глутатионтрансферазы		
УДФ-глюкуронилтрансферазы		
Сульфотрансферазы		
Ацетилтрансферазы		
Метилтрансферазы		

3. Напишите и выучите формулу глюкуроновой кислоты, укажите вещество-предшественник.

4. В процессе гниения белков, происходящего под влиянием микрофлоры толстого кишечника, образуются ядовитые продукты, например индол:



а) назовите, из какой аминокислоты образуется индол;
б) напишите формулами реакции обезвреживания этого соединения;
в) укажите другое известное вам токсическое соединение, которое образуется из этой же аминокислоты под действием кишечных бактерий;
г) напишите реакции обезвреживания этого вещества.

5. Напишите реакции инактивации фенобарбитала, назовите ферменты.

6. Первый этап инактивации аспирина завершается образованием салициловой и уксусной кислот. Напишите реакции второго этапа обезвреживания (конъюгации), назовите фермент.

7. Составьте перечень продуктов метаболизма этанола, которые вызывают метаболические, токсические, наркотические и канцерогенные эффекты и приводят к поражениям внутренних органов и нервной системы.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

В печени происходит обезвреживание:

А. NH_3
Б. Крезола
В. Ксенобиотиков
Г. Индола
Д. Адреналина

2. Выберите правильные ответы.

В функционировании микросомальной системы окисления принимают участие:

А. Цитохром Р450-редуктаза
Б. O_2
В. Цитохром Р450
Г. NADPH
Д. CO_2

3. Выберите один наиболее полный ответ.

В печени происходят реакции:

А. Конъюгации с участием УДФ-глюкуроната
Б. Гидроксилирования ксенобиотиков
В. Конъюгации с ФАФС
Г. Обезвреживания токсических веществ
Д. Конъюгации с глутатионом

4. Выберите правильные ответы.

Во второй фазе обезвреживания:

А. Участвуют глюкуронилтрансферазы
Б. Используется 5-фосфоаденозин-5′-фосфосульфат
В. Образуются растворимые конъюгаты
Г. Участвуют ацетилтрансферазы
Д. Могут образовываться канцерогены

5. Выберите правильный ответ.

Глутатионтрансферазы:

А. Функционируют в составе монооксигеназной системы
Б. Связывают липофильные вещества и предотвращают их внедрение в липидный бислой мембран
В. Восстанавливают глутатион с участием кофермента NADHP
Г. Локализованы во всех тканях
Д. Локализованы в мембранном слое эндоплазматического ретикулума

6. Выберите правильные ответы.

Субстратами цитохрома Р450 могут быть:

А. Эндогенные гидрофильные вещества
Б. Гидрофобные ксенобиотики
В. Экзогенные гидрофобные вещества
Г. Лекарства
Д. Эндогенные гидрофобные вещества

7. Выберите правильные ответы.

Изоформы цитохрома Р450 различаются по:

А. Первичной структуре
Б. Субстратной специфичности
В. Локализации
Г. Строению небелковой части
Д. Строению активного центра

8. Выберите правильный ответ.
Сульфотрансферазы:

А. *В качестве субстрата используют SAM*
Б. Катализируют перенос метильной группы
В. Обладают абсолютной специфичностью
Г. Входят в состав микросомальной системы окисления
Д. Катализируют реакции с участием 3′-фосфоаденозин-5′-фосфосульфата

9. Выберите правильные ответы.
Глутатион (ГSH):

А. Трипептид Цис—Цис—Гли
Б. Содержит остаток цистеина
В. *Участвует в реакциях, катализируемых глутатионтрансферазой*
Г. В окисленной форме имеет дисульфидный мостик
Д. Окисляется ферментом глутатионпероксидазой

10. Выберите правильный ответ.
Источником афлатоксина являются:

А. *Выхлопные газы*
Б. Анилиновые красители
В. Нитратсодержащие продукты
Г. Плесневые грибы
Д. Табачный дым

11. Установите правильную последовательность событий.
При обезвреживании 2-нафтиламина происходит:

А. Реакции микросомального окисления 2-нафтиламина
Б. Синтез конъюгатов 2-амино-1-нафтола с серной кислотой
В. Гидролиз части конъюгатов в мочевом пузыре бактериальными *ферментами*
Г. Поступление в организм человека проканцерогена 2-нафтиламина
Д. Взаимодействие 2-амино-1-нафтола с ДНК клеток и их опухолевое перерождение

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. А, Б, В, Г
2. А, Б, В, Г
3. Г
4. А, Б, В, Г
5. Д
6. Б, В, Г, Д
7. А, Б, Д
8. Д
9. Б, В, Г, Д
10. Г
11. Г→А→Б→В→Д

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Ксенобиотики
2. Микросомальная система окисления и процессы конъюгации
3. Цитохром Р450
4. Продукты гниения в кишечнике
5. Токсические эффекты этанола
6. Биотрансформация лекарств
7. Химический канцерогенез

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. У пациентов, длительно употребляющих алкоголь, наблюдается снижение эффективности действия лекарств, а также наркотических средств при хирургическом вмешательстве. Почему изменяется скорость биотрансформации лекарственных веществ у этих людей? Для ответа:

а) напишите реакции катаболизма этанола в печени;
б) объясните, как влияет этанол на активность микросомального окисления в печени.

2. В загрязненном воздухе городов, каменноугольной смоле и табачном дыме содержатся полициклические углеводороды, которые могут провоцировать *возникновение онкологических заболеваний. Укажите, какой конечный* метаболит образуется в организме из полициклических углеводородов при участии микросомальной системы окисления? Объясните механизм его канцерогенного действия. Для этого:

а) напишите схему катаболизма полициклических углеводородов;
б) назовите компонент клетки, на который оказывает действие продукт этого процесса.

3. Царь Митридат (Крымское царство) систематически принимал небольшие дозы растительных ядов, чтобы избежать острого отравления. На чем основан «эффект Митридата»? Для ответа:

а) назовите этапы обезвреживания веществ в печени;
б) напишите схему обезвреживания токсических веществ (в общем виде), укажите ферменты, коферменты;
в) объясните, почему систематический прием небольших доз растительных ядов позволяет избежать острого отравления.

4. Водно-нитратная метгемоглобинемия — заболевание, которое развивается при употреблении воды, содержащей большое количество нитратов. У грудных детей возможен летальный исход при выраженных явлениях тканевой гипоксии (синюшность губ и кожных покровов, одышка).

Нарушение каких биохимических процессов лежит в основе развития метгемоглобинемии?

Для ответа на вопрос:

а) напишите схему метаболизма нитратов в организме человека;

б) укажите, на структуру каких соединений в организме ребенка влияют продукты метаболизма нитратов;

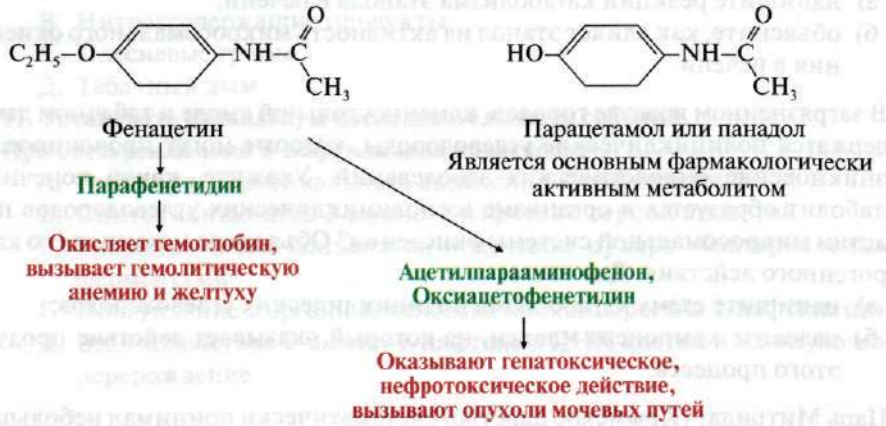
в) объясните, почему у детей наблюдается гипоксия.

5. При неправильном хранении круп, зерна и орехов в них развиваются плесени рода *Aspergillus flavus*, продуктом жизнедеятельности которых является афлатоксин B_1, вызывающий развитие первичного рака печени:

а) назовите канцерогенный метаболит, образующийся в печени из афлатоксина B_1;

б) объясните биохимические основы канцерогенного эффекта афлатоксина B_1.

6. В течение многих лет в качестве жаропонижающего и болеутоляющего средства использовали фенацетин. В организме человека он метаболизируется следующим образом:

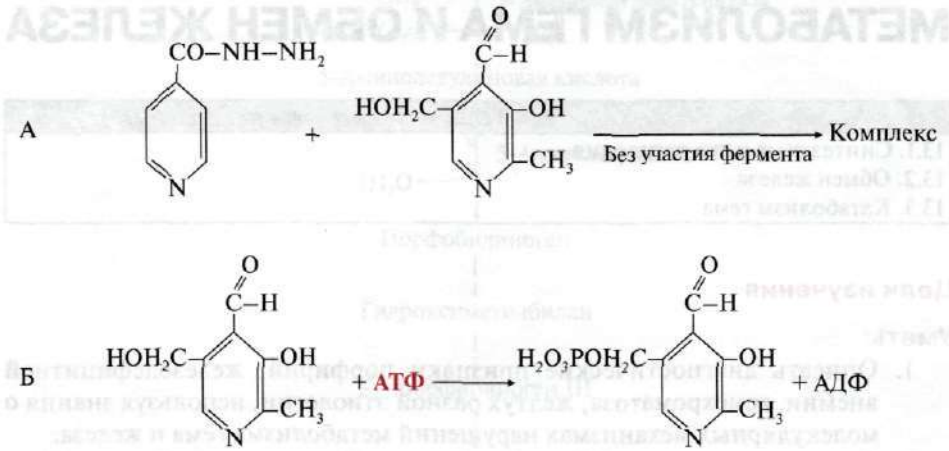


При длительном использовании фенацетин вызывает указанные побочные эффекты и даже онкологические заболевания, поэтому его производство прекращено. Парацетамол менее токсичен и в терапевтических дозах редко вызывает осложнения. Он быстрее метаболизируется в печени и выводится с мочой:

а) рассмотрите формулы лекарств и объясните, почему парацетамол менее токсичен и быстрее выводится из организма. Напишите реакцию обезвреживания парацетамола;

б) назовите продукт окисления гемоглобина, образующийся при длительном лечении фенацетином или при отравлении большими дозами парацетамола.

7. При длительном лечении туберкулеза изониазидом этот лекарственный препарат вызывает побочные эффекты и осложнения (например, невриты, поражения зрительного нерва), связанные со следующими реакциями:



Объясните возникновение этих осложнений. Для этого:

а) *назовите соединения, формулы которых представлены в уравнениях*; укажите биологическое значение этих соединений;

б) назовите фермент, катализирующий вторую реакцию и его класс;

в) укажите, какие нарушения биохимических процессов могут возникать в организме пациентов в результате указанных реакций с изониазидом;

г) назовите, какой витамин необходимо назначать пациентам при длительном лечении изониазидом.

Модуль 13

МЕТАБОЛИЗМ ГЕМА И ОБМЕН ЖЕЛЕЗА

Темы
13.1. Синтез гема и его регуляция 13.2. Обмен железа 13.3. Катаболизм гема

Цели изучения

Уметь:

1. Описать диагностические признаки порфирий, железодефицитной анемии, гемохроматоза, желтух разной этиологии, используя знания о молекулярных механизмах нарушений метаболизма гема и железа.
2. Интерпретировать уровни биохимических показателей продуктов катаболизма гема в биологических жидкостях для диагностики различных типов желтух.

Знать:

1. Роль железа в метаболизме, пути его поступления, транспорта, депонирования, реутилизации и потерь в организме.
2. Основные этапы синтеза и катаболизма гема.
3. Значение определения концентрации билирубина в биологических жидкостях для диагностики желтух разной этиологии.

ТЕМА 13.1. СИНТЕЗ ГЕМА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

1. Гем является простетической группой гемоглобина, миоглобина, цитохромов, каталазы, пероксидазы.

2. Гем синтезируется во всех клетках, но наиболее активно синтез идет в печени и костном мозге. Эти ткани нуждаются в больших количествах гема, необходимого для образования гемоглобина и цитохромов. Субстратами синтеза гема являются **глицин, сукцинил-КоА и Fe^{2+}**. В матриксе митохондрий из глицина и сукцинил-КоА под действием пиридоксальзависимого фермента **5-аминолевулинатсинтазы** образуется 5-аминолевулиновая кислота, которая поступает в цитоплазму. В цитоплазме фермент **5-аминолевулинатдегидратаза** катализирует реакцию конденсации двух молекул 5-аминолевулиновой кислоты с образованием **порфобилиногена**. Далее из четырех молекул порфобилиногена последовательно образуются промежуточные метаболиты — **порфириногены**, последний из которых поступает в митохондрии и превращается в **протопорфирин IX**. Фермент **феррохелатаза** завершает образование гема, присоединяя Fe^{2+} к протопорфирину IX (рис. 13.1).

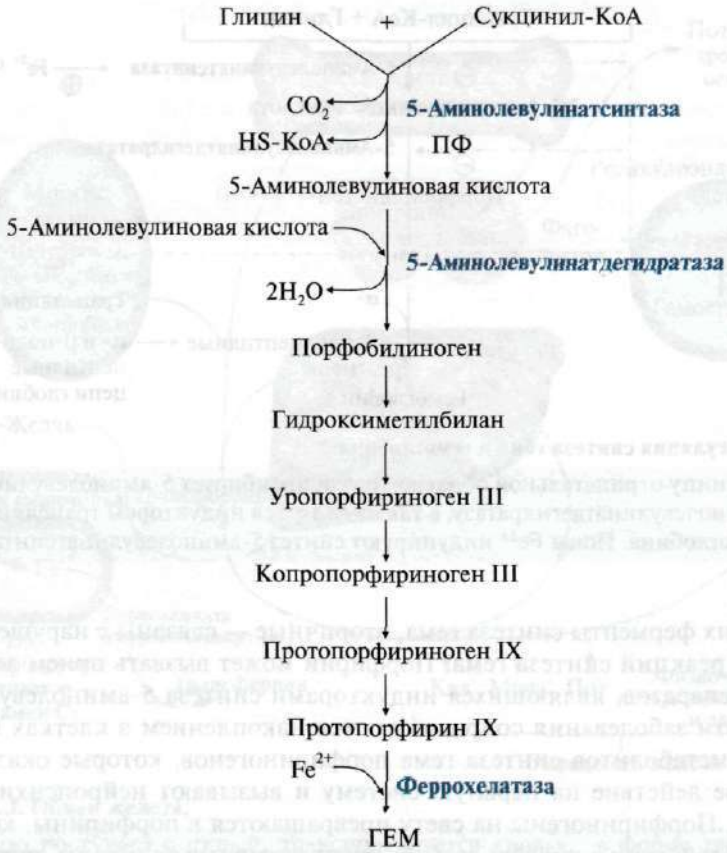


Рис. 13.1. Синтез гема.

В митохондриях клеток пиридоксальзависимый фермент 5-аминолевулинатсинтаза катализирует первую реакцию синтеза гема. Затем 5-аминолевулиновая кислота *поступает в цитоплазму, где 5-аминолевулинатдегидратаза катализирует превращение* двух молекул 5-аминолевулината в порфобилиноген, имеющий циклическое строение. В результате последовательных реакций в цитоплазме образуется протопорфирин IX. Он поступает в митохондрии и под действием фермента феррохелатазы соединяется с Fe^{+2} с образованием гема

3. Две первые реакции синтеза гема катализируют ферменты, аллостерическим ингибитором которых является гем. Вместе с тем гем является индуктором синтеза α- и β-цепей гемоглобина. В ретикулоцитах Fe^{2+} индуцирует синтез 5-аминолевулинатсинтазы (рис. 13.2). Стероидные гормоны и некоторые лекарства (барбитураты, диклофенак, сульфаниламиды, эстрогены, прогестины) являются индукторами синтеза 5-аминолевулинатсинтазы.

4. В результате генетических дефектов или нарушений регуляции ферментов, участвующих в биосинтезе гема, развиваются **порфирии**. Первичные порфирии обусловлены генетическими дефектами в структуре генов,

Рис. 13.2. Регуляция синтеза гема и гемоглобина.

Гем по принципу отрицательной обратной связи ингибирует 5-аминолевулинатсинтазу и 5-аминолевулинатдегидратазу, а также является индуктором трансляции α- и β-цепей гемоглобина. Ионы Fe^{2+} индуцируют синтез 5-аминолевулинатсинтазы

кодирующих ферменты синтеза гема, вторичные — связаны с нарушениями регуляции реакций синтеза гема. Порфирии может вызвать прием лекарственных препаратов, являющихся индукторами синтеза 5-аминолевулинатсинтазы. Эти заболевания сопровождаются накоплением в клетках промежуточных метаболитов синтеза гема порфириногенов, которые оказывают токсическое действие на нервную систему и вызывают нейропсихические симптомы. Порфириногены на свету превращаются в порфирины, которые при взаимодействии с кислородом образуют активные радикалы, повреждающие клетки кожи.

ТЕМА 13.2. ОБМЕН ЖЕЛЕЗА

Железо входит в состав гемсодержащих белков, а также металлофлавопротеинов, железосерных белков, трансферрина, ферритина.

1. Источником железа при биосинтезе белков, содержащих железо, являются пищевые продукты. Обычно всасывается не более 10% железа пищи. Железо, освобождающееся при постоянном распаде эритроцитов в клетках печени и селезенки, может повторно использоваться для синтеза железосодержащих белков.

Кислая среда желудка и присутствие в пище **аскорбиновой кислоты**, восстанавливающей Fe^{3+}, способствуют освобождению железа из солей органических кислот пищи (рис. 13.3).

2. Поступление железа из энтероцитов в кровь зависит от скорости синтеза в них белка **апоферритина**. Апоферритин улавливает железо в клетках слизистой кишечника и превращается в **ферритин**, который остается

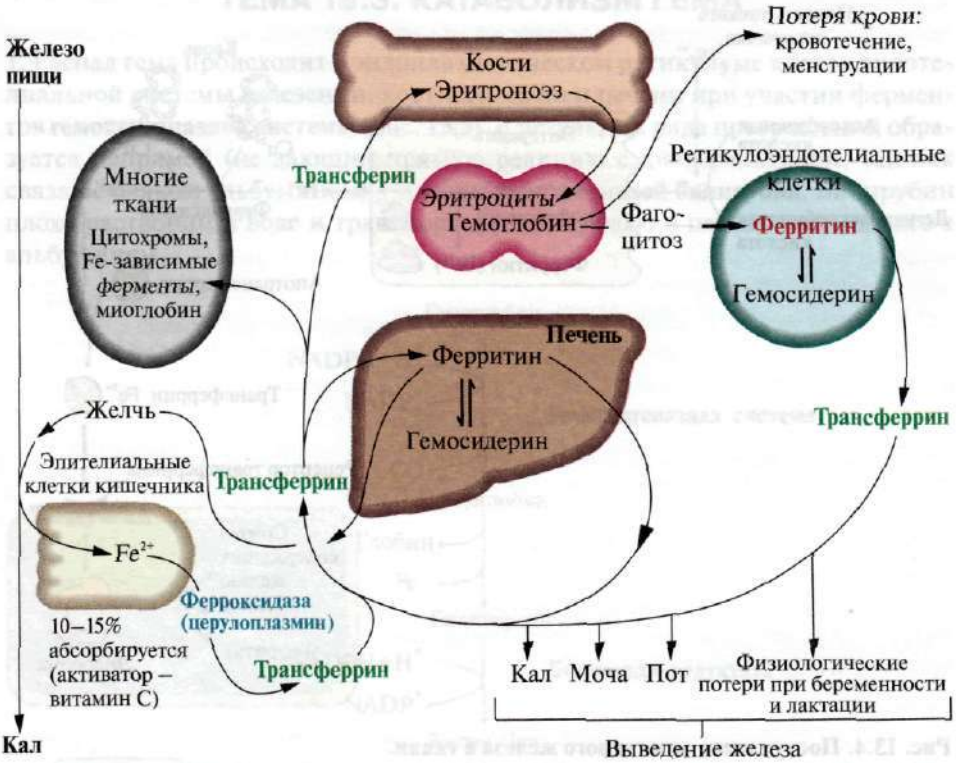


Рис. 13.3. Обмен железа.

- Железо поступает с пищей, транспортируется кровью в форме трансферрина, запасается в виде ферритина и используется для синтеза цитохромов, железосодержащих ферментов, гемоглобина и миоглобина.
- *Организм теряет железо с мочой, калом, потом и при кровотечениях.*
- Гемосидерин аккумулирует избыток железа

в энтероцитах. Это снижает поступление железа в кровь из клеток кишечника. Когда потребности в железе невелики, скорость синтеза апоферритина повышается. Слущивание клеток слизистой оболочки кишечника освобождает организм от излишков железа. При недостатке железа в организме апоферритин в энтероцитах почти не синтезируется.

Фермент крови ***ферроксидаза (церулоплазмин)*** *окисляет железо, оно связывается с гликопротеином крови* **трансферрином** и транспортируется кровью (рис. 13.4).

3. Трансферрин взаимодействует со специфическими рецепторами и поступает в клетки. Количество рецепторов трансферрина зависит от содержания *железа в клетках и регулируется на уровне транскрипции гена белка-*рецептора. При снижении содержания железа в клетках скорость синтеза рецепторов повышается, и наоборот.

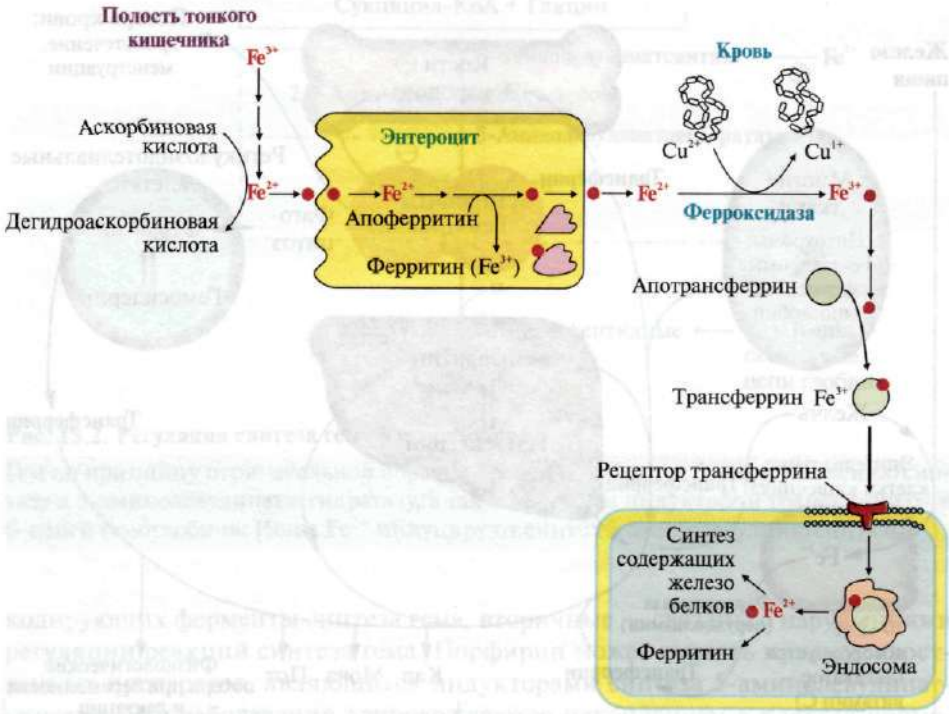


Рис. 13.4. Поступление экзогенного железа в ткани.

В полости кишечника Fe^{3+} высвобождается из белков и солей органических кислот пищи. Усвоение Fe^{3+} улучшает аскорбиновая кислота, восстанавливающая его до Fe^{+2}. Поступление Fe^{2+} из слизистой оболочки кишечника в кровь сопровождается окислением железа медьсодержащим ферментом плазмы крови ферроксидазой. Избыток поступившего в клетки слизистой оболочки кишечника железа соединяется с белком апоферритином, который окисляет железо и превращается в ферритин. В крови Fe^{3+} транспортирует белок плазмы крови трансферрин. В тканях Fe^{2+} используется для синтеза железосодержащих белков или депонируется в составе ферритина.

4. Белок ферритин играет роль депо железа в клетках печени, селезенки, костного мозга. Избыток железа аккумулируется в печени и других тканях в составе гранул гемосидерина. Если количество железа в клетках превышает объем ферритинового депо, то оно откладывается в белковой части молекулы ферритина. Таким образом ферритин превращается в гемосидерин, который плохо растворим в воде и может содержать до 37% железа. Накопление гранул гемосидерина в ретикулоэндотелиоцитах печени и селезенки может привести к повреждению органа — **гемохроматозу**.

При недостаточном поступлении или нарушении утилизации железа развивается **железодефицитная анемия**.

ТЕМА 13.3. КАТАБОЛИЗМ ГЕМА

1. *Распад гема происходит в эндоплазматическом ретикулуме клеток эндотелиальной системы селезенки, костного мозга и печени при участии ферментов* **гемоксигеназной системы** (рис. 13.5). В результате ряда превращений образуется непрямой (не дающий прямую реакцию с диазореактивом, так как связан с белком альбумином) — неконъюгированный **билирубин**. Билирубин плохо растворим в воде и транспортируется кровью в печень в комплексе с альбумином.

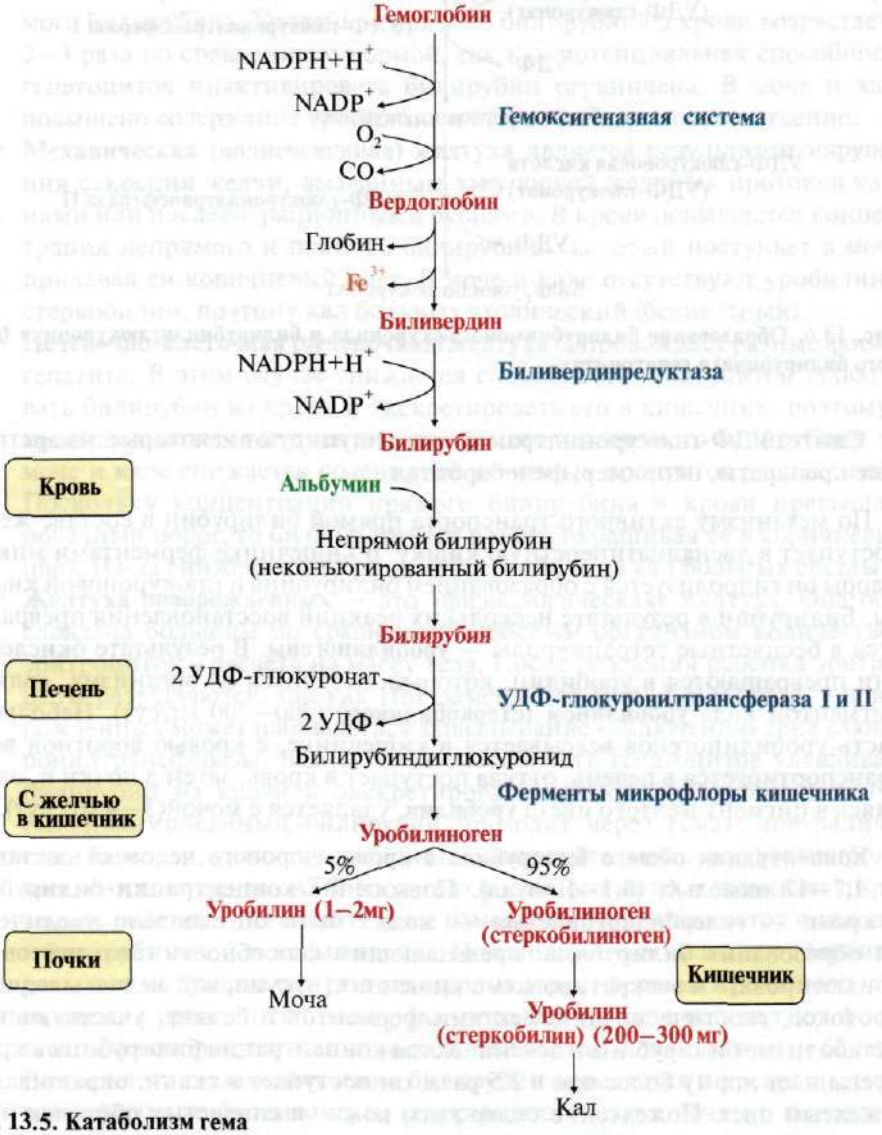


Рис. 13.5. Катаболизм гема

2. Билирубин поступает в гепатоциты по механизму облегченной диффузии с помощью белков — переносчиков лигандина и протеина Z. В печени билирубин конъюгирует с глюкуроновой кислотой под действием ферментов эндоплазматического ретикулума **УДФ-глюкуронилтрансферазы I**, катализирующей образование билирубинмоноглюкуронида и **УДФ-глюкуронилтрансферазы II**, образующей билирубиндиглюкуронид. В результате реакций конъюгации образуется **прямой** или **конъюгированный, билирубин** (рис. 13.6).

Рис. 13.6. Образование билирубинмоноглюкуронида и билирубиндиглюкуронида (прямого билирубина) в гепатоцитах

Синтез УДФ-глюкуронилтрансфераз индуцируют некоторые лекарственные препараты, например, фенобарбитал.

3. По механизму активного транспорта прямой билирубин в составе желчи поступает в двенадцатиперстную кишку. В кишечнике ферментами микрофлоры он гидролизуется с образованием билирубина и глюкуроновой кислоты. Билирубин в результате нескольких реакций восстановления превращается в бесцветные тетрапирролы — **уробилиногены**. В результате окисления они превращаются в уробилин, который выводится из организма, являясь пигментом кала **уробилином (стеркобилином)** (200—300 мг/сут). Небольшая часть уробилиногенов всасывается в кишечнике, с кровью воротной вены транспортируется в печень, оттуда поступает в кровь, затем в почки и, окисляясь в пигмент желтого цвета **уробилин**, удаляется с мочой(3—4 мг/ сут).

4. Концентрация общего билирубина в крови здорового человека составляет **1,7—17 мкмоль/л (0,1—1 мг/дл).** Повышение концентрации билирубина в крови — **гипербилирубинемия** — может быть обусловлено увеличением образования билирубина, превышающим способность гепатоцитов его конъюгировать и экскретировать в кишечник, закупоркой желчевыводящих протоков, генетическими дефектами ферментов и белков, участвующих в метаболизме билирубина в печени. Когда концентрация билирубина в крови превышает норму более чем в 2,5 раза, он поступает в ткани, окрашивая их в желтый цвет. Пожелтение склер глаз, кожи и слизистых оболочек из-за отложения в них билирубина называют **желтухой**.

5. При дифференциальной диагностике желтух в крови определяют концентрацию прямого, непрямого и общего билирубина, в моче — содержание прямого билирубина и уробилина, в кале — содержание уробилина (стеркобилина). В зависимости от механизма возникновения различают несколько типов желтух.

- **Гемолитическая (надпеченочная) желтуха** является следствием ускоренного гемолиза эритроцитов при генетических дефектах глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы, пируваткиназы или белков плазматической мембраны эритроцитов, отравлении сильными окислителями, переливании несовместимых групп крови. При этом увеличивается по сравнению с нормой поступление билирубина в кровь и образование непрямого билирубина. Уровень непрямого билирубина в крови возрастает в 2—3 раза по сравнению с нормой, так как потенциальная способность гепатоцитов инактивировать билирубин ограничена. В моче и кале повышено содержание уробилина и стеркобилина, соответственно.
- **Механическая (подпеченочная) желтуха** является результатом нарушения секреции желчи, вызванным закупоркой желчных протоков камнями или послеоперационными рубцами. В крови повышается концентрация непрямого и прямого билирубина, который поступает в мочу, придавая ей коричневый цвет. В моче и кале отсутствуют уробилин и стеркобилин, поэтому кал больных ахолический (бесцветный).
- **Печеночно-клеточная (печеночная) желтуха** сопровождает разные формы гепатита. В этом случае снижается способность гепатоцитов захватывать билирубин из крови и экскретировать его в кишечник, поэтому в крови повышается концентрация прямого и непрямого билирубина, а в моче и кале снижается содержание конечных продуктов распада гема. Поскольку концентрация прямого билирубина в крови превышает почечный порог, то он фильтруется в мочу, окрашивая ее в коричневый цвет. Из-за снижения содержания стеркобилина кал больных светлый.
- **Желтуха новорожденных** — это «физиологическая» желтуха. Она обусловлена большим по сравнению взрослым организмом количеством эритроцитов в расчете на массу тела. После рождения ребенка эритроциты разрушаются, так как HbF замещается HbA. Кроме того, у новорожденных может наблюдаться запаздывание «включения» гена глюкуронилтрансферазы, недостачная способность гепатоцитов улавливать билирубин из крови и экскретировать прямой билирубин в желчь. Неконъюгированный билирубин проходит через гематоэнцефалический барьер и, являясь разобщителем окислительного фосфорилирования, снижает синтез АТФ в клетках головного мозга и вызывает пирогенное действие. Дегенеративные изменения нервных клеток приводят к билирубиновой энцефалопатии. Новорожденным назначают барбитураты для индукции синтеза глюкуронилтрансферазы. Кроме того, для снижения уровня неконъюгированного билирубина используют фототерапию новорожденных сине-зеленым светом с длиной волны 620 нм. В результате такого облучения билирубин окисляется и превращается в гидрофильные фотоизомеры, которые поступают в почки и выводятся из организма с мочой.

- **Наследственные желтухи** обусловлены генетическими дефектами белков, участвующих в метаболизме билирубина в печени. Например, **синдром Жильбера** связан с генетическими дефектами белков, захватывающих билирубин из крови, **синдром Дубина—Джонса** — с дефектом белков, участвующих в экскреции прямого билирубина в кишечник, а при **синдроме Криглера-Найяра** нарушена первичная структура глюкуронилтрансферазы.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Составьте схему синтеза гема, указав регуляторные ферменты и их аллостерические ингибиторы.

2. Рассчитайте количество молекул глицина, необходимое для синтеза молекулы гема, и число атомов азота аминогрупп глицина, включающихся в состав пиррольных колец гема.

3. Объясните, почему при наследственных дефектах ферментов синтеза гема кожа больных обладает повышенной чувствительностью к солнечному облучению, а моча приобретает красный цвет. Накопление каких промежуточных продуктов синтеза гема вызывает эти симптомы? Как называются болезни, обусловленные генетическими дефектами ферментов синтеза гема?

4. Укажите причину возникновения порфирий у некоторых новорожденных при лечении сульфаниламидами.

5. Используя схему метаболизма железа (рис. 13.7), укажите обозначенные цифрами:

1 — условия среды и витамин, способствующие освобождению железа из солей органических кислот, содержащихся в пище;
2 — белок, регулирующий поступление железа из энтероцитов в капилляры крови;
3 — белок, связывающий избыток железа в энтероцитах;
4 — фермент, окисляющий железо в крови и облегчающий включение железа в апотрансферрин;
5 — белок, транспортирующий железо в крови;
6, 7 — белки, которые аккумулируют и депонируют железо в тканях; основные железосодержащие белки:
8 — костного мозга;
9 — мышц;
10 — других тканей;
11 — основной гемсодержащий белок эритроцитов.

6. Перенесите в тетрадь и заполните таблицу 13.1.

Таблица 13.1. Анемии и их характеристики

Анемия	Причины	Проявления
Макроцитарная		
Гемолитическая		
Железодефицитная		

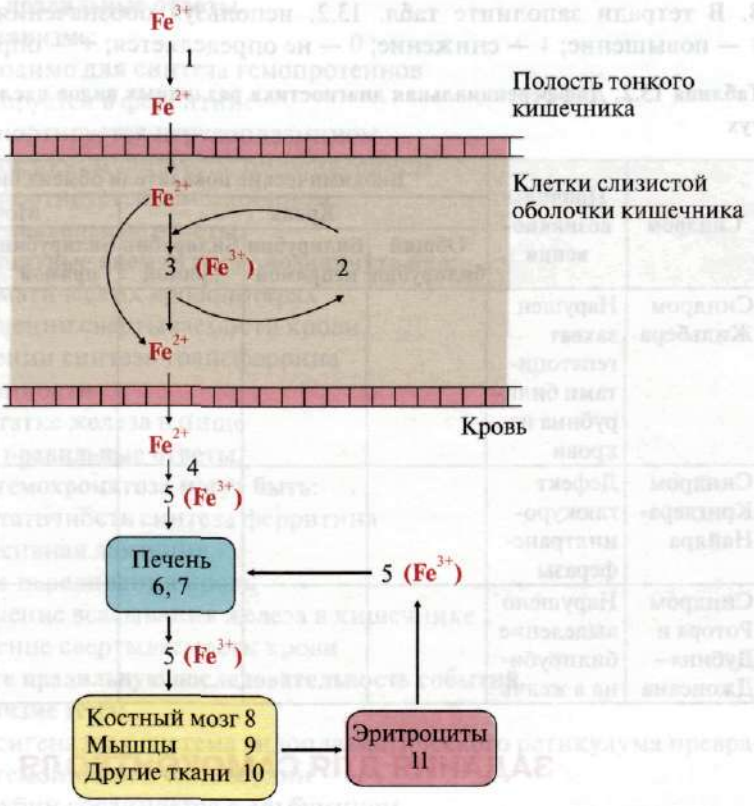


Рис. 13.7. Поступление, транпорт и использование железа в организме

7. В схеме превращения билирубиндиглюкуронида в кишечнике (рис. 13.8) укажите вещества А, Б, В, Г.

Рис. 13.8. Превращения билирубиндиглюкуронида в кишечнике

8. В тетради заполните табл. 13.2, используя обозначения: N — норма, ↑ — повышение; ↓ — снижение; 0 — не определяется; + — определяется.

Таблица 13.2. Дифференциальная диагностика различных видов наследственных желтух

Синдром	Причины возникновения	Биохимические показатели обмена билирубина					
		Кровь			Моча		Кал
		Общий билирубин	Билирубин непрямой	Билирубин прямой	Билирубин прямой	Уробилин	Стеркобилин
Синдром Жильбера	Нарушен захват гепатоцитами билирубина из крови						
Синдром Криглера-Найяра	Дефект глюкуронилтрансферазы						
Синдром Ротора и Дубина–Джонсана	Нарушено выделение билирубина в желчь						

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Выберите правильные ответы.

Синтез гема:

А. Происходит в эритроцитах
Б. Снижается при авитаминозе B_6
В. Регулируется гемом и гемоглобином
Г. Тормозится при дефиците железа в организме
Д. Локализован в митохондриях

2. Выберите правильный ответ.

Феррохелатаза:

А. Активируется аскорбиновой кислотой
Б. Содержит кофермент биотин
В. Присоединяет железо к порфобилиногену
Г. Является аллостерическим ферментом
Д. Присоединяет железо к протопорфирину

3. Выберите правильные ответы.

А. Суточная потребность в железе — 10—20 мг
Б. Причина макроцитарной анемии — дефицит железа в организме
В. После распада гема железо используется повторно
Г. Основная часть железа в организме содержится в геме
Д. Большая часть железа в организме находится в ферритине

4. Выберите правильные ответы.

Железо в организме:

А. Необходимо для синтеза гемопротеинов

Б. Депонируется в ферритине

В. Транспортируется церулоплазмином

Г. Избыток аккумулируется гемосидерином

Д. Транспортируется гемоглобином

5. Выберите правильные ответы.

Железодефицитные анемии могут возникнуть при:

А. Систематических кровопотерях

Б. Повышении свертываемости крови

В. Снижении синтеза трансферрина

Г. Беременности

Д. Недостатке железа в пище

6. Выберите правильные ответы.

Причинами гемохроматоза могут быть:

А. Недостаточность синтеза ферритина

Б. Интенсивная лактация

В. Частые переливания крови

Г. Повышение всасывания железа в кишечнике

Д. Снижение свертываемости крови

7. Установите правильную последовательность событий.

При катаболизме гема:

А. Гемоксигеназная система эндоплазматического ретикулума превращает гемоглобин в биливердин

Б. Билирубин соединяется с альбумином

В. Биливердинредуктаза восстанавливает биливердин в билирубин

Г. В гепатоцитах образуется конъюгированный билирубин

Д. Непрямой билирубин транспортируется кровью в печень

8. Выберите правильные ответы.

Глюкуронилтрансфераза:

А. Катализирует реакцию конъюгации

Б. Индуцируется фенобарбиталом и этанолом

В. Участвует в образовании прямого билирубина

Г. Содержится в гепатоцитах

Д. Необходима для обезвреживания прямого билирубина

9. Установите соответствие.

А. Непрямой билирубин

Б. Билирубиндиглюкуронид

В. Уробилиноген

Г. Биливердин

Д. Уробилин

1. Концентрация в крови повышается при гемолитической желтухе
2. В составе желчи секретируется в кишечник
3. В норме содержится в моче

10. Выберите правильные ответы.
При паренхиматозной желтухе:

А. Увеличивается концентрация прямого билирубина в крови
Б. В моче присутствует билирубин
В. В кале увеличено содержание стеркобилина
Г. Повышается уровень непрямого билирубина в крови
Д. Кал ахолический (обесцвечен)

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. Б, В, Г
2. Д
3. В, Г
4. А, Б, Г
5. А, В, Г, Д
6. В, Г
7. А→В→Б→Д→Г
8. А, Б, В, Г
9. 1–А, 2–Б, 3–Д
10. А, Б, Г

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Гем
2. Порфирии
3. Ферритин
4. Ферроксидаза (церулоплазмин)
5. Трансферрин
6. Железодефицитная анемия
7. Гемохроматоз
8. Биливердин
9. Билирубин (прямой и непрямой)
10. Уробилиногены
11. Уробилин
12. Стеркобилин
13. Желтухи: гемолитическая (надпеченочная), печеночно-клеточная (печеночная), механическая (подпеченочная), новорожденных, наследственные.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Молодая девушка обратилась к дерматологу по поводу красноты, отечности и зуда, появившихся на открытых участках кожи после загородной прогулки в солнечный день. Врач выяснил, что пациентка принимала лекарство

бисептол (препарат, содержащий сульфаниламид) в связи с обострением хронического бронхита. В крови больной обнаружены 5-аминолевулинат и *порфобилиноген, моча окрашена в красный цвет. Объясните причину фото*дерматоза у этой пациентки и установите заболевание, которым она страдает. Для этого:

а) напишите две первые реакции метаболического пути, в котором обнаруженные в крови пациентки вещества являются промежуточными продуктами;
б) назовите фермент, синтез которого индуцируют сульфаниламиды, укажите механизм его регуляции;
в) объясните молекулярные механизмы возникновения симптомов заболевания.

2. Больному, страдающему железодефицитной анемией, врач назначил лекарственный препарат ферро-фольгамма, содержащий аскорбиновую кислоту, сульфат железа, фолиевую кислоту и витамин B_{12}. Обоснуйте рекомендацию врача, описав роль каждого компонета препарата в метаболизме железа, синтезе гема и гемоглобина.

3. Врожденная атрансферринемия (болезнь Хелмейера) сопровождается нарушением включения железа в синтез гема. Объясните причину железодефицитного состояния, обусловленного недостаточностью трансферрина. Для этого:

а) опишите этапы поступления экзогенного железа в клетки;
б) укажите роль трансферрина в метаболизме железа.

4. В инфекционное отделение больницы поступил пациент с жалобами на *слабость, повышенную температуру — 38,5 °С и с выраженной желтушной* окраской кожи и слизистых оболочек. Концентрации прямого и непрямого билирубина в крови пациента повышены. В моче присутствует прямой билирубин, содержание уробилина в моче и стеркобилина в кале снижено. Каким типом желтухи страдает пациент? Для ответа на вопрос:

а) представьте схему образования непрямого билирубина;
б) напишите схему реакций конъюгации билирубина;
в) перечислите свойства прямого и непрямого билирубина, объясните причины токсичности неконъюгированного (непрямого) билирубина;
г) укажите, активность каких органоспецифичных ферментов гепатоцитов определяют в крови для диагностики патологий печени, и опишите основные принципы, лежащие в основе энзимодиагностики.

5. Двум новорожденным, у которых была обнаружена желтуха, врач рекомендовал фототерапию. У одного ребенка состояние улучшилось и симптомы желтухи исчезли. Второму ребенку облучение сине-зеленым светом не помогло, поэтому ему назначили фенобарбитал. Однако такое лечение оказалось неэффективным, и у ребенка появились симптомы энцефалопатии. *Обоснуйте рекомендации врача и объясните результаты лечения.* Для этого:

а) объясните возможные причины возникновения «физиологической» желтухи новорожденных;
б) укажите, как изменяется концентрация билирубина в крови, стеркобилина и уробилина соответственно в кале и моче больных детей;
в) объясните механизмы лечебного действия фототерапии и фенобарбитала и напишите схему реакции, на скорость которой влияет фенобарбитал;
г) перечислите возможные причины желтухи у второго новорожденного.

6. У больного с генетическим дефектом белка плазматической мембраны эритроцитов появилась желтушность склер, слизистых оболочек и кожи. В крови пациента повышена концентрация непрямого билирубина, кал интенсивно окрашен, в моче билирубин отсутствует. Какой диагноз можно поставить этому пациенту? Для ответа на вопрос:
а) укажите концентрацию общего билирубина в крови в норме;
б) опишите этапы катаболизма гема;
в) объясните причину повышения непрямого билирубина в крови пациента.

7. При определении концентрации прямого и непрямого билирубина в крови трех больных с желтушностью склер, слизистых оболочек и кожи были получены результаты, представленные в табл. 13.3.

Таблица 13.3. Содержание прямого и непрямого билирубина в крови мкмоль/л

Заболевание	Прямой билирубин	Непрямой билирубин
Норма	2	6
Патология 1	80	6
Патология 2	12	24
Патология 3	4	75

Установив соответствие, определите, каким типом желтухи страдает каждый из обследованных пациентов:
а) гемолитическая желтуха, вызваннная генетическим дефектом белка плазматической мембраны эритроцитов;
б) паренхиматозная желтуха, развившаяся при вирусном гепатите;
в) обтурационная желтуха, вызванная обострением желчнокаменной болезни.

Модуль 14

БИОХИМИЯ КРОВИ

Темы
14.1. Метаболизм эритроцитов
14.2. Особенности метаболизма фагоцитирующих клеток
14.3. Основные биохимические механизмы гемостаза
14.4. Основные свойства белковых фракций крови и значение их определения для диагностики заболеваний

Цели изучения

Уметь:

1. Объяснять причины, вызывающие гемолиз эритроцитов.
2. Описывать молекулярные механизмы возникновения нарушений свертывания крови.
3. Аргументировать целесообразность применения некоторых лекарственных препаратов для лечения нарушений свертывания крови.
4. Обосновывать основные причины возникновения гипо- и гиперпротеинемий.

Знать:

1. Особенности метаболизма эритроцитов, пути образования и обезвреживания в них активных форм кислорода.
2. Роль активных форм кислорода в фагоцитозе.
3. Структуру ферментных комплексов прокоагулянтного этапа свертывания крови, последовательность их взаимодействия, механизмы регуляции и этапы образования фибринового тромба.
4. Роль и молекулярные основы функционирования противосвертывающей и фибринолитической систем крови.
5. Молекулярные механизмы нарушений свертывания крови и современные способы их коррекции.
6. Основные свойства и функции белков плазмы крови.

ТЕМА 14.1. МЕТАБОЛИЗМ ЭРИТРОЦИТОВ

Эритроциты — высокоспециализированные клетки, которые переносят кислород от легких к тканям и диоксид углерода, образующийся при метаболизме из тканей к альвеолам легких. В результате дифференцировки эритроциты теряют ядро, рибосомы, митохондрии, эндоплазматический ретикулум. Эти клетки имеют только плазматическую мембрану и цитоплазму. Они не содержат ядра, поэтому неспособны к самовоспроизведению и репарации возникающих в них повреждений. Двояковогнутая форма эритроцитов имеет бо́льшую площадь поверхности по сравнению с клетками сферической формы такого же размера. Это облегчает газообмен между клеткой и внеклеточной средой. Вместе с тем такая форма и особенности строения

цитоскелета и плазматической мембраны обеспечивают большую пластичность эритроцитов при прохождении ими мелких капилляров.

Метаболизм глюкозы в эритроцитах представлен анаэробным гликолизом и пентозофосфатным путем превращения глюкозы. Эти процессы обусловливают сохранение структуры и функций гемоглобина, целостность клеточной мембраны и образование энергии для работы ионных насосов.

1. Гликолиз обеспечивает энергией работу транспортных АТФаз, а также протекающие с затратой АТФ гексокиназную и фосфофруктокиназную реакции гликолиза. NADH, образующийся в ходе анаэробного гликолиза, является коферментом **метгемоглобинредуктазы**, катализирующей восстановление метгемоглобина в гемоглобин. Кроме того, в эритроцитах присутствует фермент бисфосфоглицератмутаза, превращающий промежуточный метаболит этого процесса 1,3-бисфосфоглицерат в **2,3-бисфосфоглицерат**. Образующийся только в эритроцитах 2,3-бисфосфоглицерат служит важным аллостерическим регулятором связывания кислорода с гемоглобином. На окислительном этапе пентозофосфатного пути превращения глюкозы образуется NADPH, участвующий в восстановлении глутатиона. Последний используется в антиоксидантной защите эритроцитов (рис. 14.1).

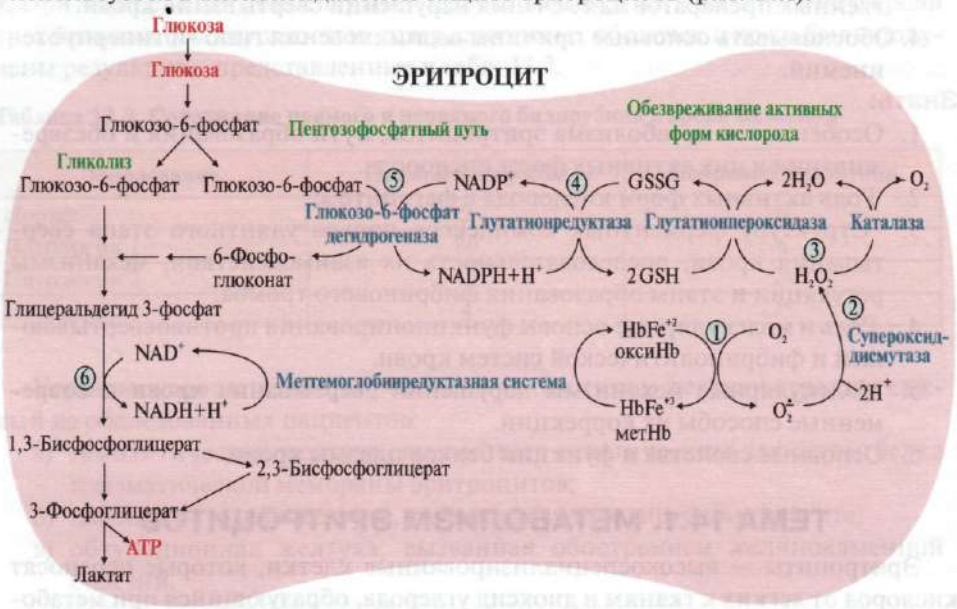


Рис. 14.1. Образование и обезвреживание активных форм кислорода в эритроцитах:

1 — источник супероксидного аниона в эритроцитах — спонтанное окисление Fe^{2+} в геме гемоглобина; 2 — супероксиддисмутаза превращает супероксидный анион в пероксид водорода и O_2; 3 — пероксид водорода расщепляется каталазой или глутатионпероксидазой; 4 — глутатионредуктаза восстанавливает окисленный глутатион; 5 — на окислительном этапе пентозофосфатного пути превращения глюкозы образуется NADPH, необходимый для восстановления глутатиона; 6 — в глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции гликолиза образуется NADH, участвующий в восстановлении железа метгемоглобина метгемоглобинредуктазной системой

2. Большое содержание кислорода в эритроцитах определяет высокую скорость образования супероксидного анион-радикала O_2^-, пероксида водорода H_2O_2 и гидроксил-радикала $OH^{\bullet}$.

Постоянным источником активных форм кислорода в эритроцитах является неферментативное окисление железа гемоглобина:

$$\underset{\text{МетHb}(Fe^{3+})}{\overset{\text{Hb}(Fe^{2+})}{\downarrow}} \longrightarrow \bar{e} + O_2 \longrightarrow O_2^- \xrightarrow[\bar{e},\ 2H^+]{} H_2O_2 \xrightarrow[\bar{e},\ H^+]{} H_2O + OH^{\bullet}.$$

Активные формы кислорода могут вызвать гемолиз эритроцитов. Эритроциты содержат ферментативную систему, предотвращающую токсическое действие радикалов кислорода и разрушение мембран эритроцитов.

3. Нарушение любого звена ферментативной системы обезвреживания активных форм кислорода приводит к снижению скорости этого процесса. При генетическом дефекте глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и приеме некоторых лекарств, являющихся сильными окислителями, потенциал глутатионовой защиты может оказаться недостаточным. Это приводит к повышению содержания в клетках активных форм кислорода, вызывающих окисление SH-групп молекул гемоглобина. Образование дисульфидных связей между протомерами гемоглобина и метгемоглобина приводит к их агрегации — образованию **телец Хайнца** (рис. 14.2).

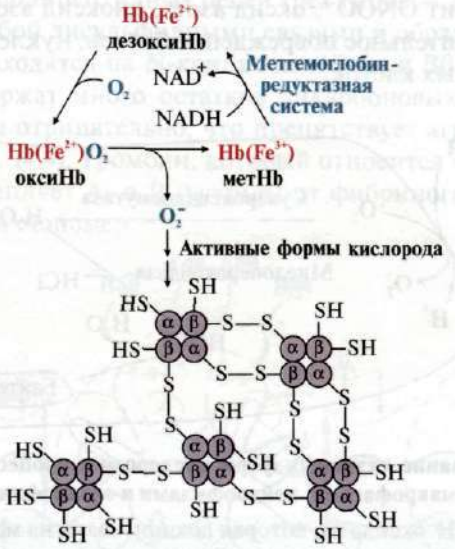


Рис. 14.2. Схема образования телец Хайнца — агрегации молекул гемоглобина.

В норме супероксиддисмутаза катализирует образование пероксида водорода, который под действием глутатионпероксидазы превращается в H_2O. При недостаточной активности ферментов обезвреживания активных форм кислорода происходит окисление SH-групп в остатках цистеина протомеров метгемоглобина и образование дисульфидных связей. Такие структуры называются тельцами Хайнца

Последние способствуют разрушению эритроцитов при попадании их в мелкие капилляры. Активные формы кислорода, вызывая перекисное окисление липидов мембран, разрушают мембраны.

ТЕМА 14.2. ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ФАГОЦИТИРУЮЩИХ КЛЕТОК

Фагоцитоз обеспечивает защиту организма от бактерий. Моноциты и нейтрофилы мигрируют из кровяного русла к очагу воспаления и эндоцитозом захватывают бактерии, образуя фагосому.

1. Фагоцитоз требует увеличения потребления кислорода, который является главным источником O_2^-, H_2O_2, $OH^\cdot$ в фагоцитирующих клетках (рис. 14.3). Этот процесс, продолжающийся 30—40 минут, сопровождается резким повышением поглощения кислорода и поэтому называется респираторным взрывом.

2. В макрофагах бактерицидное действие оказывает оксид азота NO, источником которого является реакция превращения аргинина в NO и цитруллин под действием NO-синтазы. Супероксид анион образует с оксидом азота соединения, обладающие сильными бактерицидными свойствами:

$$NO + O_2^- \rightarrow ONOO^- \rightarrow OH^\cdot + NO_2.$$

Пероксинитрит $ONOO^-$, оксид азота, диоксид азота, гидроксил радикал вызывают окислительное повреждение белков, нуклеиновых кислот и липидов бактериальных клеток.

Рис. 14.3. Образование активных форм кислорода в процессе респираторного взрыва активированными макрофагами, нейтрофилами и эозинофилами.

Активация NADPH-оксидазы, которая локализована на мембране клетки, вызывает образование супероксидных анионов. При фагоцитозе мембрана впячивается, затем образуется эндосома и супероксидсинтезирующая система вместе с бактериальной клеткой оказывается в эндосоме. Супероксидные анионы генерируют образование других активных молекул, включая H_2O_2 и гидроксильные радикалы.
Миелопероксидаза — гемсодержащий фермент, находящийся в гранулах нейтрофилов. Она поступает в эндосому, где образует HClO. В результате мембраны и другие структуры бактериальной клетки разрушаются

ТЕМА 14.3. ОСНОВНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕМОСТАЗА

Прекращение кровотечения после травмы кровеносных сосудов, растворение сгустков крови — тромбов — и сохранение крови в жидком состоянии обеспечивает **гемостаз**. Этот процесс включает четыре этапа:

- рефлекторное сокращение поврежденного сосуда в первые секунды после травмы;
- образование в течение 3—5 минут тромбоцитарной пробки (белого тромба) в результате взаимодействия поврежденного эндотелия с тромбоцитами;
- формирование в продолжение 10—30 мин фибринового (красного) тромба: растворимый белок плазмы крови фибриноген под действием фермента тромбина превращается в нерастворимый фибрин, который откладывается между тромбоцитами белого тромба;
- фибринолиз — растворение тромба под действием протеолитических ферментов, адсорбированных на фибриновом сгустке. На этом этапе просвет кровеносного сосуда освобождается от отложений фибрина и предотвращается закупорка сосуда фибриновым тромбом.

1. Свертывание крови — важнейшая часть гемостаза. В процессе формирования фибринового тромба можно выделить четыре этапа.

- **Превращание фибриногена в фибрин-мономер.** Молекула фибриногена состоит из шести полипептидных цепей трех типов — 2Aα, 2Bβ, 2γ. Они связаны между собой дисульфидными связями и образуют три домена. A- и B-участки находятся на N-концах цепей Aα и Bβ соответственно. Эти участки содержат много остатков дикарбоновых аминокислот и поэтому заряжены отрицательно, что препятствует агрегации молекул фибриногена (рис. 14.4). Тромбин, который относится к группе сериновых протеаз, отщепляет A- и B-пептиды от фибриногена; в результате образуется фибрин-мономер.

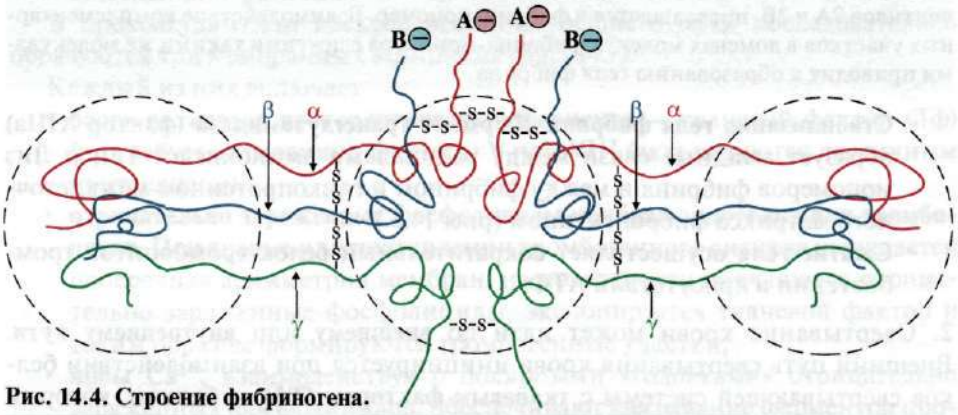


Рис. 14.4. Строение фибриногена.

Фиброген состоит из шести полипептидных цепей 3 типов: 2Aα , 2Bβ и 2γ, образующих три домена (обозначены штрихами). A и B — отрицательно заряженные участки цепей Aα и Bβ препятствуют агрегации молекул фибриногена

- **Образование нерастворимого геля фибрина.** В молекулах фибрина-мономера имеются участки, комплементарные к другим молекулам фибрина, — центры связывания, между которыми образуются нековалентные связи. Это приводит к полимеризации молекул фибрина и формированию нерастворимого геля фибрина (рис. 14.5). Он непрочен, так как образован слабыми нековалентными связями.

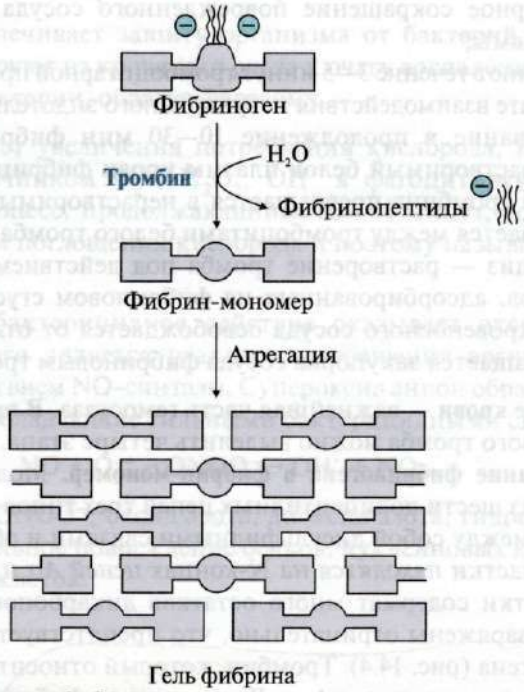


Рис. 14.5. Образование геля фибрина.

Фибриноген, освобождаясь под действием тромбина от отрицательно заряженных пептидов 2А и 2В, превращается в фибрин-мономер. Взаимодействие комплементарных участков в доменах молекул фибрина-мономера с другими такими же молекулами приводит к образованию геля фибрина

- **Стабилизация геля фибрина**. Фермент **трансглутамидаза** (фактор XIIIa) образует амидные связи между радикалами аминокислот Глн и Лиз мономеров фибрина и между фибрином и гликопротеином межклеточного матрикса фибронектином (рис. 14.6.)
- **Сжатие геля** осуществляет сократительный белок тромбоцитов тромбостенин в присутствии АТФ.

2. Свертывание крови может идти по **внешнему** или **внутреннему пути**. Внешний путь свертывания крови инициируется при взаимодействии белков свертывающей системы с **тканевым фактором (Тф)** — белком, который экспонируется на мембранах поврежденного эндотелия и активированных тромбоцитов, внутренний путь — при контакте белков свертывающей системы с отрицательно заряженными участками поврежденного эндотелия.

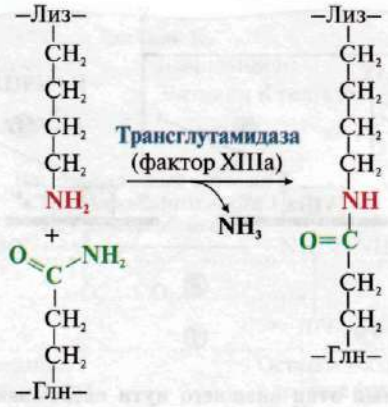


Рис. 14.6. Образование амидных связей между остатками Глн и Лиз в мономерах фибрина

Коагуляции (образованию фибринового тромба) предшествует ряд последовательных реакций активации **факторов свертывания крови**. Эти реакции инициируются на поврежденной или измененной тромбогенным сигналом клеточной мембране и заканчиваются активацией протромбина.

Каскад реакций прокоагулянтного этапа имеет ряд особенностей:

- все ферменты являются протеазами и активируются частичным протеолизом;
- все реакции локализованы на поврежденных мембранах клеток крови и эндотелия, поэтому тромб образуется на этих участках;
- максимальную активность ферменты проявляют в составе мембранных комплексов, включающих фермент, фосфолипиды клеточных мембран, белок-активатор, Ca^{2+}.
- большинство факторов свертывания активируется по механизму положительной обратной связи.

В прокоагулянтном каскаде реакций внешнего пути последовательно образуются три мембранных комплекса (рис. 14.7).

Каждый из них включает:

- **белок-активатор протеолитического фермента** — тканевой фактор (Тф) (не требует активации), факторы V или VIII (активируются частичным протеолизом);
- **отрицательно заряженные фосфолипиды мембран эндотелия или тромбоцитов**. При травме или поступлении тромбогенного сигнала нарушается поперечная асимметрия мембран, на поверхности появляются отрицательно заряженные фосфолипиды, экспонируется тканевой фактор и таким образом формируются тромбогенные участки;
- **ионы Ca^{2+}**, взаимодействуя с полярными «головками» отрицательно заряженных фосфолипидов, обеспечивают связывание ферментов прокоагулянтного пути с мембранами клеток. В отсутствии Ca^{2+} кровь не свертывается;

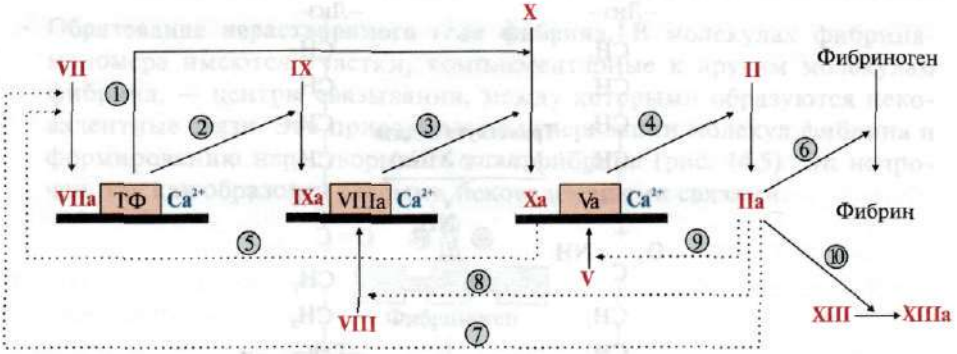


Рис. 14.7. Прокоагулянтный этап внешнего пути свертывания крови и превращение фибриногена в фибрин.

Стрелка — активация факторов свертывания крови; стрелка с точками — активация факторов свертывания по принципу положительной обратной связи; ▬ — мембранный фосфолипидный компонент ферментных комплексов, в рамке — белки-активаторы.

1, 2 — фактор VIIa мембранного комплекса VIIa—Тф—Ca^{2+} активирует факторы IX и X; 3 — фактор IXa мембранного комплекса IXa—VIIIa—Ca^{2+} (тенназа) активирует фактор X; 4, 5 — фактор Xa мембранного комплекса Xa—Va—Ca^{2+} (протромбиназа) превращает протромбин (фактор II) в тромбин (фактор IIa) и активирует фактор VII по принципу положительной обратной связи; 6—10 — тромбин (фактор IIa) превращает фибриноген в фибрин, активирует факторы V, VII, VIII и XIII

- один из **протеолитических ферментов (сериновую протеазу)** — фактор VII, IX или X. Эти белки содержат на N-концах молекул 10—12 остатков γ-карбоксиглутаминовой кислоты. Посттрансляционное карбоксилирование факторов VII, IX, X, а также протромбина, плазминогена и протеина С катализирует **γ-глутамилкарбоксилаза**. Коферментом этого фермента является восстановленная форма витамина К, которая образуется в печени под действием NADPH-зависимой витамин К-редуктазы (рис. 14.8).

Структурные *аналоги витамина К* — ***дикумарол и варфарин*** — *являются* конкурентными ингибиторами **NADPH-зависимой витамин К-редуктазы**. Они снижают скорость восстановления витамина К и, следовательно, активность γ-глутамилкарбоксилазы. Производные варфарина и дикумарола используют как непрямые антикоагулянты для предотвращения тромбозов.

Инициирующий мембранный комплекс содержит белок-активатор Тф, фермент фактор VII и ионы Ca^{2+}. Фактор VII обладает небольшой активностью, но в комплексе VII—Тф—Ca^{2+} его активность в результате конформационных изменений возрастает, и он частичным протеолизом активирует фактор X.

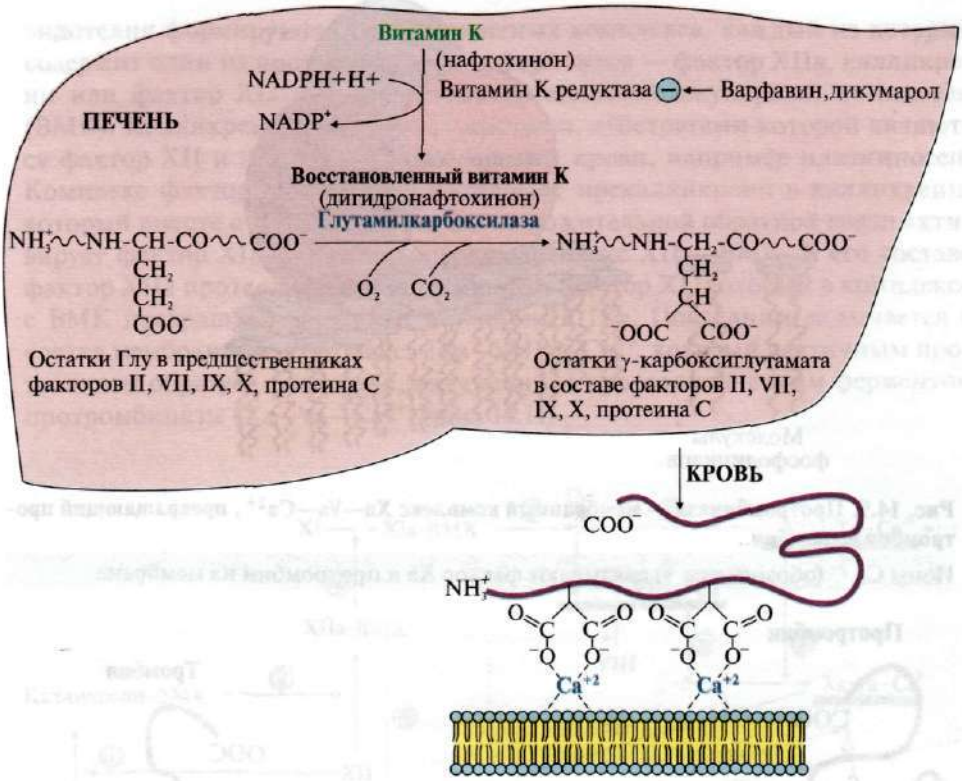


Рис. 14.8. Посттрансляционное карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты в молекулах сериновых протеаз свертывающей системы крови; роль Ca^{2+} в связывании этих ферментов на тромбогенных участках клеточных мембран

Кроме того, инициирующий комплекс активирует фактор IX. Мембранные комплексы IXa–VIIIa—Ca^{2+} (тенназа) и VIIa—Тф—Ca^{2+} образуют активный фактор Xa. Последний в составе **протромбиназного комплекса** Xa-Va-Ca^{2+} может превращать небольшое количество протромбина (фактор II) в тромбин (фактор IIa). Образовавшийся тромбин активирует (по принципу положительной обратной связи) факторы V, VIII, VII, которые включаются в состав мембранных комплексов.

Протромбин — это гликопротеин плазмы крови, который синтезируется в печени. Молекула протромбина состоит из одной полипептидной цепи, содержит одну дисульфидную связь и остатки γ-карбоксиглутамата. Последние, взаимодействуя с Ca^{2+}, связывают профермент с мембраной (рис. 14.9).

Фактор Xa протромбиназного комплекса гидролизует две пептидные связи в молекуле протромбина, и он превращается в тромбин. Тромбин состоит из двух полипептидных цепей, связанных дисульфидной связью, и не содержит остатков γ-карбоксиглутамата (рис. 14.10).

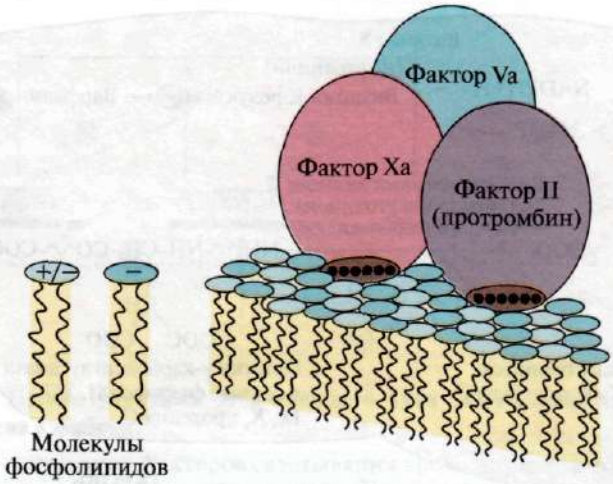


Рис. 14.9. Протромбиназа — мембранный комплекс Xa—Va—Ca^{2+}, превращающий протромбин в тромбин.

Ионы Ca^{2+} (обозначены •) связывают фактор Xa и протромбин на мембране

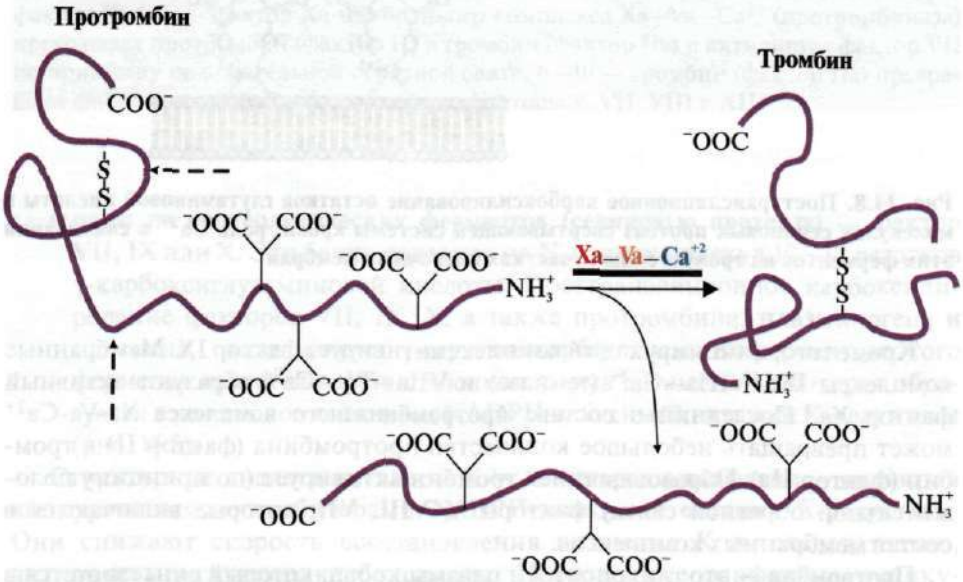


Рис. 14.10. Протеолитическая активация протромбина фактором Xa протромбиназного комплекса:

$^{-}OOC\diagup\diagdown OOC^{-}$ — остатки карбоксиглутамата; штрих-стрелки указывают положение гидролизуемых в молекуле протромбина пептидных связей

4. Внутренний путь свертывания крови инициируется при контакте фактора XII с участком поврежденного эндотелия сосудов, приводящем к аутокаталитической активации фактора. На отрицательно заряженном участке

эндотелия формируются три ферментных комплекса, каждый из которых содержит один из протеолитических ферментов — фактор XIIa, калликреин или фактор XIa и белок-активатор высокомолекулярный кининоген (ВМК). Калликреин — сериновая протеаза, субстратами которой являются фактор XII и некоторые белки плазмы крови, например плазминоген. Комплекс фактор XIIa—ВМК превращает прекалликреин в калликреин, который вместе с ВМК по принципу положительной обратной связи активирует фактор XII, включающийся в комплекс XIIa—ВМК. В его составе фактор XIIa протеолитически активирует фактор XI, который в комплексе с ВМК превращает фактор IX в активный IXa. Последний включается в состав мембранного комплекса IXa—VIIIa—Ca^{2+}, который частичным протеолизом образует фактор Xa, являющийся протеолитическим ферментом протромбиназы (Xa—Va—Ca^{2+}) (рис. 14.11).

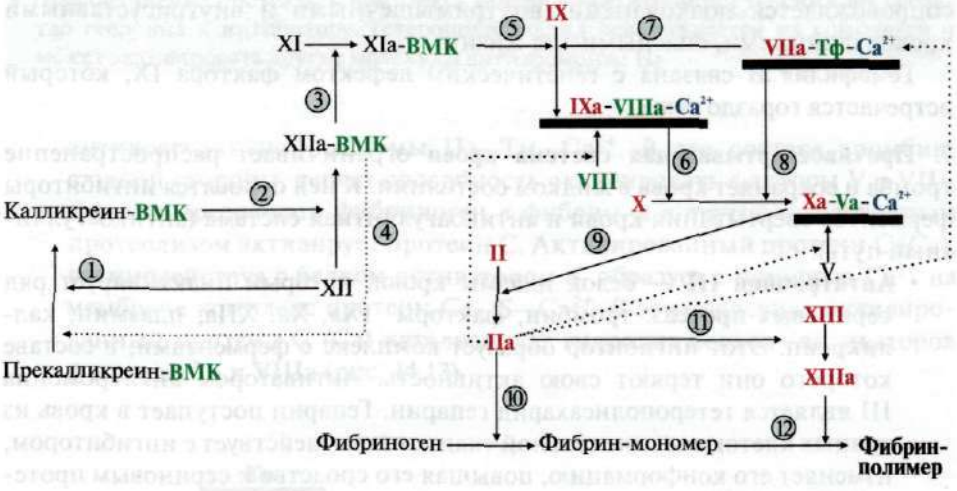


Рис. 14.11. Схема внутреннего и внешнего путей свертывания крови:

ВМК — высокомолекулярный кининоген; Тф — тканевой фактор. Обозначения см. на рис. 14.7

Все ферменты свертывающей системы крови являются протеазами и активируются частичным протеолизом:

1 — активируемый контактом с субэндотелием фактор XII превращает прекалликреин в калликреин; 2 — калликреин комплекса калликреин-ВМК частичным протеолизом активирует фактор XII; 3 — фактор XIIa комплекса XIIa—ВМК активирует фактор XI; 4 — активированный частичным протеолизом фактор XIIa комплекса XIIa—ВМК превращает прекалликреин в калликреин по принципу положительной обратной связи; 5 — фактор XIa комплекса XIa—ВМК активирует фактор IX; 6 — фактор IXa мембранного комплекса IXa—VIIIa—Ca^{2+} активирует фактор X; 7, 8 — фактор VIIa мембранного комплекса VIIa—Тф—Ca^{2+} активирует факторы IX и X; 9 — фактор Xa протромбиназного комплекса активирует фактор II (протромбин); 10, 11 — фактор IIa (тромбин) превращает фибриноген в фибрин и активирует фактор XIII (трансглутамидазу); 12 — фактор XIIIa катализирует образование амидных связей в геле фибрина;

5. Таким образом, каскад реакций внешнего и внутреннего путей свертывания крови приводит к образованию протромбиназы. Этапы, одинаковые для обоих путей, называют **общим путем** свертывания крови.

Каждое ферментативное звено реакций свертывания крови обеспечивает усиление сигнала, а положительные обратные связи обусловливают лавинообразное ускорение всего процесса, быстрое образование тромба и прекращение кровотечения.

6. Гемофилии. Снижение свертываемости крови приводит к гемофилиям — заболеваниям, сопровождающимся повторяющимися кровотечениями. Причина кровотечений при этих заболеваниях — наследственная недостаточность белков свертывающей системы крови.

Гемофилия А обусловлена мутацией гена фактора VIII, локализованного в Х-хромосоме. Дефект этого гена проявляется как рецессивный признак, поэтому этой формой болезни страдают только мужчины. Гемофилия А сопровождается подкожными, внутримышечными и внутрисуставными кровоизлияниями, опасными для жизни.

Гемофилия В связана с генетическим дефектом фактора IX, который встречается гораздо реже.

7. Противосвертывающая система крови ограничивает распространение тромба и сохраняет кровь в жидком состоянии. К ней относятся ингибиторы ферментов свертывания крови и антикоагулянтная система (антикоагулянтный путь).

- **Антитромбин III** — белок плазмы крови, который инактивирует ряд сериновых протеаз: тромбин, факторы IXa, Xa, XIIa, плазмин, калликреин. Этот ингибитор образует комплекс с ферментами, в составе которого они теряют свою активность. Активатором антитромбина III является гетерополисахарид гепарин. Гепарин поступает в кровь из тучных клеток соединительной ткани, взаимодействует с ингибитором, изменяет его конформацию, повышая его сродство к сериновым протеазам (рис. 14.12).
- **Ингибитор тканевого фактора (антиконвертин)** синтезируется клетками эндотелия и локализуется на поверхности плазматической мембраны. Он образует с фактором Xa комплекс, который связывается с фосфолипидами мембран и тканевым фактором. В результате этого комплекс VIIa—Тф—Ca^{2+} не образуется и становится невозможной активация факторов X и IX.
- **α_2-Макроглобулин** взаимодействует с активными сериновыми протеазами и подавляет их протеолитическую активность.
- **α_1-Антитрипсин** ингибирует тромбин, фактор XIa, калликреин, а также панкреатические и лейкоцитарные протеазы, ренин, урокиназу.
- **Антикоагулянтная система (система протеина С)** включает последовательное образование двух ферментных комплексов. Взаимодействие тромбина с белком-активатором тромбомодулином (Тм) в присутствии ионов Ca^{2+} приводит к образованию первого мембранного комплекса

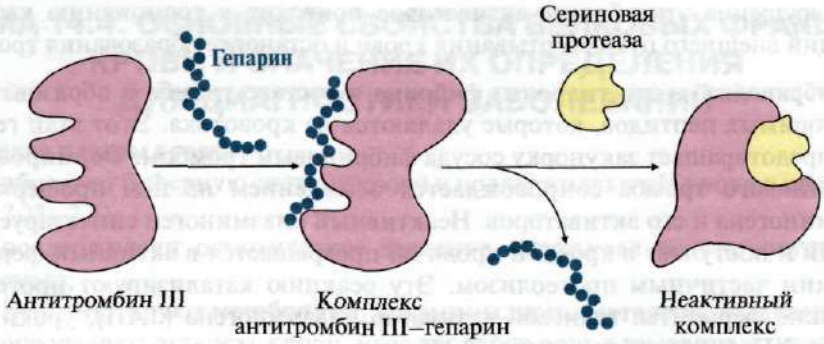


Рис. 14.12. Инактивация антитромбином III сериновых протеаз.

- *Гепарин связывается с антитромбином III, изменяет его конформацию и увеличивает сродство к сериновым протеазам.*
- Присоединение протеазы к комплексу гепарин—антитромбин III снижает сродство гепарина к ингибитору. Гетерополисахарид освобождается из комплекса и может активировать другие молекулы антитромбина III

антикоагулянтной системы IIa—Тм—Ca^{2+}. В его составе тромбин, с одной стороны, теряет способность активировать факторы V и VIII, а также превращать фибриноген в фибрин, а с другой — частичным протеолизом активирует протеин С. Активированный протеин С (Са), взаимодействуя с белком активатором S, образует с помощью Ca^{2+} на мембране комплекс протеин Са—S—Ca^{2+}. В этих условиях активированный протеин С (Са) катализирует гидролиз белков—активаторов факторов Va и VIIIa (рис. 14.13).

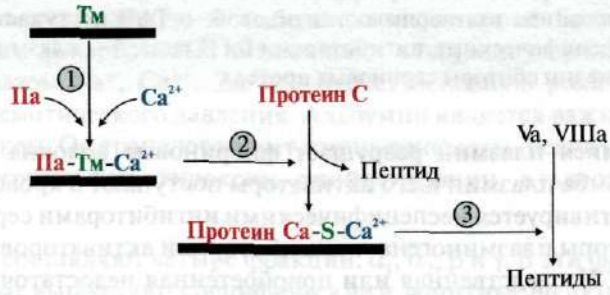


Рис. 14.13. Антикоагулянтная система (система протеина С):

1 – тромбин (IIa) образует мембранный комплекс с тромбомодулином (Тм); 2 – тромбин в составе мембранного комплекса IIa–Тм–Ca^{2+} частичным протеолизом активирует протеин С; 3 – активированный протеин С (Са) в составе мембранного комплекса протеин Са–S–Ca^{2+} гидролизует пептидные связи в факторах Va и VIIIa, превращая их в неактивные пептиды; Тм – тромбомодулин; Са – активированный протеин С; S – протеин S; ▬ – мембрана клеток

Разрушение этих белков-активаторов приводит к торможению каскада реакций внешнего пути свертывания крови и остановке образования тромба.

8. Фибринолиз — это гидролиз фибрина в составе тромба с образованием растворимых пептидов, которые удаляются из кровотока. Этот этап гемостаза предотвращает закупорку сосуда фибриновым тромбом. Формирование фибринового тромба сопровождается осаждением на нем профермента плазминогена и его активаторов. Неактивный плазминоген синтезируется в печени и поступает в кровь. В крови он превращается в активный фермент плазмин частичным протеолизом. Эту реакцию катализируют протеолитические ферменты: тканевой активатор плазминогена (ТАП), урокиназа, фактор XIIa и калликреин (рис. 14.14).

Рис. 14.14. Фибринолитическая система крови:
1 — плазминоген под действием активаторов (ТАП, калликреина, урокиназы, фактора XIIa) частичным протеолизом превращается в плазмин; 2 — плазмин гидролизует фибрин с образованием растворимых пептидов; 3 — ТАП поступает в кровоток и ингибируется специфическими ингибиторами I и II типа; 4 — плазмин ингибируют неспецифические ингибиторы сериновых протеаз

Образующийся плазмин разрушает фибриновые волокна. Освобождающиеся из тромба плазмин и его активаторы поступают в кровоток. В крови плазмин инактивируется неспецифическими ингибиторами сериновых протеаз, а активаторы плазминогена — ингибиторами активаторов плазминогена I и II типа. Наследственная или приобретенная недостаточность белков фибринолитической системы сопровождается тромбозами.

ТЕМА 14.4. ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ КРОВИ И ЗНАЧЕНИЕ ИХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Белки плазмы крови:

- образуют буферную систему крови и поддерживают pH крови в пределах 7,37—7,43;
- поддерживают осмотическое давление, удерживая воду в сосудистом русле;
- транспортируют метаболиты, витамины, ионы металлов, лекарства;
- определяют вязкость крови, играя важную роль в гемодинамике кровеносной системы;
- являются резервом аминокислот для организма;
- выполняют защитную роль.

1. Общий белок плазмы крови составляет 60—80 г/л, альбумин — 40—60 г/л, глобулины 20—30 г/л.

Белки плазмы крови электрофоретически можно разделить на фракции, количество которых в зависимости от условий электрофореза может составлять от пяти до шестидесяти. При электрофорезе на бумаге белки делятся на пять фракций: **альбумин** (55—65%), **α_1-глобулины** (2—4%), **α_2-глобулины** (6—12%), **β-глобулины** (8—12%) и **γ-глобулины** (12—22%). Альбумин имеет наибольшую, а γ-глобулины наименьшую подвижность в электрическом поле.

Большинство белков плазмы крови синтезируется в печени, однако некоторые образуются и в других тканях. Например, γ-глобулины синтезируются В-лимфоцитами, а пептидные гормоны в основном секретируют эндокринные железы.

2. Белок **альбумин** синтезируется в печени, имеет небольшую молекулярную массу и составляет большую часть белков плазмы крови. Благодаря высокому содержанию дикарбоновых аминокислот альбумин удерживает катионы, главным образом Na^+, Ca^{2+}, Zn^{2+}, и играет основную роль в сохранении коллоидно-осмотического давления. Альбумин является важнейшим транспортным белком. Он транспортирует жирные кислоты, неконъюгированный билирубин, триптофан, тироксин, трийодтиронин, альдостерон, многие лекарства.

3. Глобулины составляют четыре фракции: α_1, α_2, β и γ. В эти фракции входят белки, которые выполняют специфические и защитные функции, например, тироксин- и кортизолсвязывающие белки, трансферрин, церулоплазмин (ферроксидаза), интерфероны, иммуноглобулины.

4. Содержание белков в плазме крови может изменяться при патологических состояниях. Такие изменения называются диспротеинемией.

- **Гиперпротеинемия** — это повышение концентрации белков в плазме крови.

Гиперпротеинемия может быть вызвана потерей воды организмом при полиурии, диарее, рвоте или обусловлена повышением содержания γ-глобулинов и некоторых других белков при острых воспалительных процессах, травмах, миеломной болезни. Их называют белками острой фазы, и к ним относят, например, С-реактивный белок (называемый так потому, что взаимодействует с С-полисахаридами пневмококков), гаптоглобин (образует комплекс с гемоглобином, который поглощается макрофагами, что предотвращает потерю железа), фибриноген.

- **Гипопротеинемия** в основном является следствием нарушения синтеза или потери организмом альбумина, то есть является гипоальбуминемией. Она наблюдается при нефрите, гепатите, циррозе печени, ожогах, продолжительном голодании. Уменьшение содержания альбумина в крови приводит к снижению осмотического давления, а также нарушению распределения жидкости между сосудистым руслом и межклеточным пространством, что проявляется в виде отеков.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Нарисуйте в тетради схему метаболизма эритроцитов (рис. 14.15) и завершите ее, указав:

а) ферменты, обозначенные цифрами 1, 2, 3 и т. д.;

б) коферменты, обозначенные # и *;

в) ферменты метаболизма глюкозы, которые катализируют реакции восстановления $NADP^+$ и NAD^+;

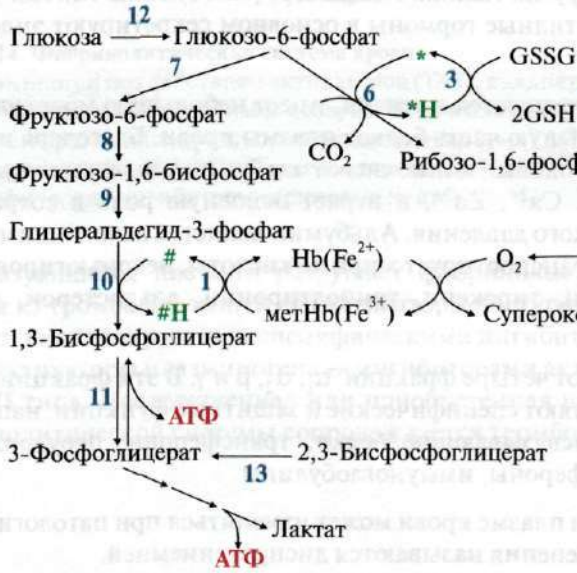


Рис. 14.15. Метаболизм эритроцитов:

#, * — коферменты, #H , *H — восстановленные коферменты

г) аллостерический регулятор, снижающий сродство гемоглобина к кислороду в тканях;

д) ферменты катаболизма глюкозы, обеспечивающие синтез АТФ.

2. Напишите реакции:

а) образования активных форм кислорода в эритроцитах;

б) восстановления глутатиона;

в) устранения H_2O_2;

г) восстановления метгемоглобина в гемоглобин.

3. Нарисуйте в тетради схему прокоагулянтного этапа свертывания крови (рис. 14.16), заменив знак вопроса соответствующим фактором.

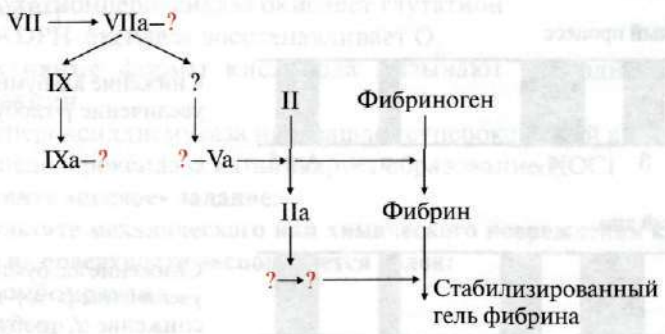


Рис. 14.16. Прокоагулянтный этап свертывания крови и образование геля фибрина

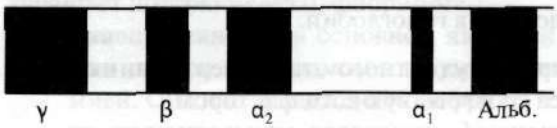
4. Напишите реакцию образования амидной связи между радикалами остатков глутамина и лизина мономеров фибрина, укажите фермент, его профермент, активатор и механизм активации. Объясните значение этой реакции в формировании фибринового тромба.

5. Представьте схему, показывающую роль тромбина на прокоагулянтном этапе свертывания крови и в антикоагулянтном пути, дописав названия отсутствующих белков и кофакторов (рис. 14.17). Укажите механизмы действия каждого фактора и его роль в гемостазе.

Рис. 14.17. Роль тромбина на прокоагулянтном этапе и в антикоагулянтном пути свертывания крови

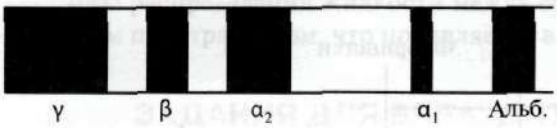
6. Сравните результаты, полученные при электрофоретическом разделении на бумаге белков плазмы крови (протеинограммы) в норме и при некоторых патологических состояниях (рис. 14.18). Укажите возможные причины, вызвавшие изменения количества белков некоторых фракций при этих состояниях организма.

Нормальная протеинограмма



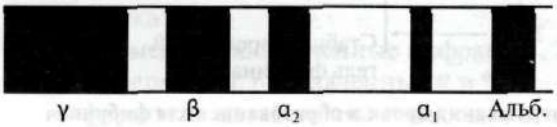
Нормальные значения:
Альбумин – 53,9–62,1 отн. %
Глобулины: α_2–2,7–5,1 отн. %
α_1–7,4–10,2 отн. %
β–11,7–15,3 отн. %
γ–15,6–21,4 отн. %

Воспалительный процесс



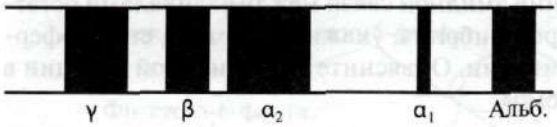
Снижение альбумина, увеличение γ-глобулина

Цирротический тип



Снижение альбумина, увеличение β- и γ-глобулинов, снижение α_2-глобулина

Нефротический тип



Резкое снижение всех фракций при значительном увеличении α_2-глобулина

Рис. 14.18. Протеинограммы белков плазмы крови в норме и при некоторых патологических состояниях

7. Заполните табл. 14.1, указав функции белков плазмы крови.

Таблица 14.1. Функции некоторых белков плазмы крови

Белок плазмы крови	Функция
Альбумин	
Иммуноглобулины	
Трансферрин	
Церулоплазмин	
Транскортин	
Тироксинсвязывающий белок	
Протромбин	
Фибриноген	

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Установите правильную последовательность событий.

При обезвреживании активных форм кислорода в эритроцитах:

А. Супероксиддисмутаза катализирует образование пероксида водорода
Б. Гемоглобин спонтанно окисляется в метгемоглобин
В. Глутатионпероксидаза разрушает пероксид водорода
Г. Глутатионредуктаза восстанавливает окисленный глутатион
Д. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа восстанавливает $NADP^+$

2. Выберите правильные ответы.

В фагоцитирующих клетках:

А. Глутатионпероксидаза окисляет глутатион
Б. NADPH-оксидаза восстанавливает O_2
В. Активные формы кислорода вызывают свободнорадикальные реакции
Г. Супероксиддисмутаза превращает супероксидный анион в H_2O_2
Д. Миелопероксидаза катализирует образование HOCl

3. Выполните «цепное» задание:

а) в результате механического или химического повреждения клеток эндотелия на поверхности экспонируется белок:

А. Тромбомодулин
Б. Фактор V
В. Трансглутамидаза
Г. Тканевой фактор
Д. Протеин С

б) он активирует сериновую протеазу инициирующего комплекса свертывающей системы крови:

А. Тканевой фактор
Б. Тромбомодулин
В. Протеин S
Г. Фактор VII
Д. Фактор II

в) этот активированный фермент в составе мембранного комплекса действует на субстрат:

А. Фибриноген
Б. Протеин С
В. Гепарин
Г. Протромбин
Д. Фактор X

г) протеолитическая активация этого субстрата приводит к образованию:

А. Фибрина
Б. Активированного протеина С
В. Фактора XIIIa
Г. Тромбина
Д. Фактора Xa

д) этот белок вызывает:

А. Активацию протеина С
Б. Превращение плазминогена в плазмин
В. Образование комплекса с гепарином
Г. Активацию тканевого фактора
Д. Отщепление пептида от профермента

е) в результате этого образуется:

А. Плазмин
Б. Активная трансглутамидаза
В. Фибрин-мономер
Г. ТАП
Д. Тромбин

ж) этот белок участвует в реакции:

А. Частичного протеолиза
Б. Фосфорилирования
В. Карбоксилирования
Г. Полимеризации
Д. Конъюгации

з) в результате этой реакции происходит:

А. Образование белого тромба
Б. Агрегация тромбоцитов
В. Ретракция геля фибрина
Г. Формирование красного тромба
Д. Превращение фибриногена в фибрин

4. Выполните «цепное» задание:

а) посттрансляционной модификацией ферментов свертывающей системы крови является:

А. Фосфорилирование серина
Б. Окисление лизина
В. Гликозилирование серина
Г. Карбоксилирование глутамата
Д. Гидроксилирование пролина

б) в этой реакции участвует кофермент:

А. $NADP^+$
Б. FAD
В. Биотин
Г. NAD^+
Д. Восстановленная форма витамина К (KH_2)

в) структурным аналогом этого кофермента является лекарственный препарат:

А. Сульфаниламид
Б. Фенобарбитал
В. Дитилин
Г. Варфарин
Д. Аллопуринол

г) лечение этим препаратом вызывает (выберите правильные ответы):

А. Повышение свертываемости крови

Б. Нарушение образования ферментных мембранных комплексов

В. Снижение свертываемости крови

Г. Ускорение трансляции протеолитических ферментов внешнего пути свертывания крови

Д. Повышение скорости полимеризации фибрина.

5. Выберите правильные ответы.

Ингибиторами свертывания крови являются:

А. α_2-Макроглобулин

Б. Антитромбин III

В. Плазмин

Г. Антиконвертин

Д. α_1-Антитрипсин

6. Выполните «цепное» задание.

а) тромбомодулин активирует:

А. Протеин С

Б. Протеин S

В. Тканевой фактор

Г. Протромбин

Д. Тромбин

б) этот белок изменяет свою конформацию и приобретает способность активировать:

А. Фактор VIII

Б. Фактор V

В. Протеин S

Г. Протеин С

Д. Антитромбин III

в) активация выбранного вами белка стимулирует образование следующего мембранного комплекса, в котором белком-активатором является:

А. Протеин S

Б. Протеин С

В. Плазмин

Г. Фактор V

Д. ТАП

г) этот активатор повышает сродство сериновой протеазы к субстратам (выберите правильные ответы):

А. Фактору Va

Б. Фактору VIIa

В. Фибрину

Г. Фактору VIIIa

Д. Тромбину

7. Выберите правильные ответы.

Плазмин:

А. Образуется в результате частичного протеолиза из профермента.
Б. Является сериновой протеазой
В. Активируется гепарином
Г. Гидролизует фибрин
Д. Ингибируется α_2-макроглобулином

8. Выберите правильные ответы.

Гипоальбуминемия наблюдается при:

А. Диарее
Б. Нефротическом синдроме
В. Злокачественных новообразованиях в печени
Г. Циррозе печени
Д. Желчнокаменной болезни.

9. Выберите правильные ответы.

Гиперпротеинемия наблюдается при:

А. Диарее
Б. Полиурии
В. Инфекционных болезнях
Г. Повторяющейся рвоте
Д. Длительных кровотечениях

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К «ЗАДАНИЯМ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ»

1. Б→А→В→Г→Д
2. Б, В, Г, Д
3. а) Г, б) Г, в) Д, г)Д, д) Д, е) Д, ж) А, з) Д
4. а) Г, б) Д, в) Г, г) Б, В
5. А, Б, Г, Д
6. а) Д, б) Г, в) А, г) А, Г
7. А, Б, Г, Д
8. Б, В, Г
9. А, Б, В, Г

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ

1. Метгемоглобинредуктаза
2. Бисфосфоглицератмутаза
3. Супероксиддисмутаза
4. Глутатионредуктаза
5. Тельца Хайнца
6. Гемостаз
7. Адгезия и агрегация тромбоцитов

8. Гемофилии
9. Тромбозы
10. Свертывание крови (внешний и внутренний пути свертывания крови)
11. Факторы свертывания крови
12. Витамин К
13. Противосвертывающая система (антитромбин III, антиконвертин, α_2-макроглобулин, система протеина С)
14. Фибринолиз
15. Белки плазмы крови (альбумин, α_1-глобулины, α_2-глобулины, β-глобулины и γ-глобулины)
16. Гиперпротеинемия. Гипопротеинемия

ЗАДАНИЯ ДЛЯ АУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

Решите задачи

1. Парацетамол — жаропонижающее и болеутоляющее вещество, которое входит в состав некоторых лекарств, например гриппостада, фервекса. Однако такие препараты противопоказаны людям, имеющим генетический дефект глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы эритроцитов. Какие последствия может вызвать прием лекарств, содержащих парацетамол, у пациентов с недостаточностью этого фермента? Для ответа на вопрос напишите:

а) реакцию образования супероксидного аниона в эритроцитах;
б) схему обезвреживания активных форм кислорода в эритроцитах и объясните значение окислительных реакций пентозо-фосфатного пути для нормального протекания этого процесса.

2. У пациента, страдающего хроническим грануломатозом, обнаружена наследственная недостаточность NADPH-оксидазы. При этом заболевании некоторые микроорганизмы сохраняют жизнеспособность внутри фагоцитов, а их антигены вызывают клеточный иммунный ответ и образование гранулем. Объясните роль NADPH-оксидазы в фагоцитозе. Для этого:

а) напишите реакцию, которую катализирует этот фермент;
б) укажите вещества, синтез которых снижается в фагоцитирующих клетках при недостаточности NADPH-оксидазы.

3. В слюнных железах медицинской пиявки содержится ингибитор тромбина — пептид гирудин. В крови человека гирудин образует комплекс с тромбином, в котором фермент теряет способность превращать фибриноген в фибрин. Почему гирудотерапию (лечение пиявками) используют для профилактики тромбозов при сердечно-сосудистых заболеваниях? Для ответа на вопрос опишите:

а) этапы образования фибринового тромба;
б) особенности строения протромбина и механизм его превращения в тромбин.

4. Для профилактики тромбозов и тромбоэмболии после инфаркта миокарда врач назначил пациентке препарат варфарин и рекомендовал диету, исключающую на время лечения продукты, богатые витамином К (капусту, шпинат, салат, зеленый чай). Обоснуйте рекомендацию врача. Для этого:

а) укажите кофермент, образующийся в организме из витамина К;

б) объясните значение посттрансляционной модификации сериновых протеаз, в которой участвует этот кофермент;

в) опишите роль протеаз в мембранных ферментных комплексах внешнего пути свертывания крови.

5. В отсутствии ионов Ca^{2+} кровь не свертывается. Какую роль играет Ca^{2+} в свертывании крови? Для ответа на вопрос:

а) опишите состав мембранных комплексов прокоагулянтного этапа внешнего пути свертывания крови и последовательность их взаимодействия;

б) укажите роль Ca^{2+} в формировании этих комплексов.

6. У новорожденного с наследственным дефицитом протеина С обнаружена легочная эмболия. Почему ребенок, гомозиготный по такой мутации, может погибнуть сразу после рождения, если ему не проводить заместительную терапию протеином С? Для ответа на вопрос:

а) напишите схему реакций системы протеина С;

б) объясните роль тромбина в гемостазе.

7. Пациентке, страдающей тромбофлебитом, для профилактики тромбоза назначили лечение тканевым активатором плазминогена (ТАП). Объясните механизм действия рекомендованного врачом препарата. Для этого представьте схему фибринолитической системы крови и укажите роль ТАП, ингибитора активатора плазминогена и ингибиторов плазмина.

8. Редкое наследственное аутосомно-рецессивное заболевание анальбуминемия сопровождается почти полным отсутствием альбумина. Почему у пациентов с такой патологией наблюдаются отеки? Для ответа на вопрос укажите:

а) особенности аминокислотного состава альбумина;

б) функции этого белка плазмы крови.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Агонисты 28, 29
Агрекан 312, 313, 316
Аденилатциклаза 11, 73, 181–183, 195, 196
Аденилатциклазная система 181–183, 195, 198, 247, 289, 296, 349, 362, 368, 534, 546
Аденин 114, 116, 122, 129, 479, 488
S-Аденозилметионин 11, 456, 488
Аденозин 114, 457, 479, 480, 486, 488, 490
Аденозиндезаминаза, недостаточность 486
Аденозинкиназа 479
Аденозинмонофосфат (АМФ) 108, 109, *114, 183, 188, 189, 249*
Аденозинтрифосфат (АТФ) 11, 27, 50, 70, 75, 76, 95
Адреналин 111, 181, 196, 199, 236, 245, 247–249, 254, 256
Адреногенитальный синдром 514, 518
Адренорецепторы 199
Адренокортикотропный гормон (кортикотропин, АКТГ) 11, 505, 512, 513, 518
Азидотимидин 487
Азота оксид 376, 588
Азот аминокислот, катаболизм 409
Азотистое равновесие 409, 426
Азотистый баланс 8, 407–409, 423, 426, 428, 459, 512, 522
Аконитаза 223
  цикл лимонной кислоты 270
Акромегалия 496
Активный центр 25–27, 30, 33–37, 40–42, 44, 65, 67, 83, *90, 91, 94, 95, 98, 99,* 178, 373, 414
  фермента 27, 65, 67, 83, 90, 91, 98, 99, 373
Аланин 302, 415, 417, 422, 423, 430–433, 435, 438, 442, 446–448, 452
Аланинаминотрансфераза (АЛТ) 102, 417–419, 426, 428, 430, 437, 441, 446
Алкаптонурия 103, 453, 464, 473
Алкалоз 380, 450, 530, 533, 538
Алкогольдегидрогеназа 160, 287, 559, 560
Аллопуринол 481, 495, 604
Аллостерическая регуляция 46, 61, 93, 96, 108, 291, 295
Аллостерические эффекторы 61, 94, 108,
Альбинизм 103, 464, 473
Альбумин(ы) 18, 26, 64, 338, 362, 368, 546, 575, 581, 599, 600, 602, 607, 608
  сывороточный 64, 481
Альдостерон 152, 257, 505–507, 533, 535–538, 543–547, 599
  механизм действия 536
Альдостеронизм 538
Амилаза 75, 106, 236, 238, 258,
  слюны 236, 237
Амидофосфорибозилтрансфераза 477, 478
Аминоацил-тРНК 136
Аминоацил-тРНК-синтетазы 136, 137, 151
Аминокислоты 16, 17, 25, 33, 284, 408, 420, 522
  биосинтез 14, 113, 114, 116, 476
  в белках 408
  всасывание 407, 409
  гликогенные 440, 446, 449, 450, 525
  дезаминирование 407–409, 417, 420, 421, 423, 446, 555
  углеродного скелета 225, 442, 444
  кетогенные 441, 446, 449, 450
  классификация 32, 422, 446
  метаболизм 428
  незаменимые 408, 424, 426, 444, 473,
  стереоизомеры 67, 82
δ-Аминолевулиновая кислота (АЛК) 570, 571
Аминолевулинатдегидратаза 570–572
у-Аминомасляная кислота (у-аминобутират, ГАМК) 75, 437, 458, 465–467
Аминопептидаза(ы) 409, 411, 413, 415, 422
Аминотрансферазы 74, 285, 407, 417, 419, 425, 428, 435, 442
Амины биогенные 407, 408, 429, 446, 453, 465–468, 471, 472, 560
Аммиак 407, 419, 429–434, 436–438, 444–448
  в крови, нормальное содержание
  образование 433
  токсическое действие 451
Амитал 216, 217
Анаболические процессы 276, 512
Анаплеротические реакции 233, 420, 442
Ангиотензиноген 535, 545
Ангиотензин-превращающий фермент 535, 537
Ангиотензин 535, 545, 547
Андрогены 505, 506
Анемия 36, 82, 164, 170, 229, 232, 283, 304, 323, 413, 578, 583

Анемия мегалобластная 456, 472, 483, 495
Антагонисты 28, 508, 539
Антикоагулянты 592
Антикодон 127, 136–138, 146
Антимицин А 212
окислительное фосфорилирование 201, 204, 205, 206, 208, 209, 212, 216, 220, 223, 229, 354
Антиоксиданты 272, 328, 398
а,-Антитрипсин 170, 596, 605
Антитромбин III 596, 597, 605, 607
В-100 (Апо-В-100), рецептор 332, 339, 350, 394, 396–398, 401
Аполипопротеины (апобелки) 331, 332, 339, 340, 398
Апоферменты 70, 83, 100, 204, 213
Апоферритин (регуляция синтеза) 572–574
Арахидоновая кислота 92, 328, 371–375, 377, 380, 381
Аргиназа 436, 439, 448
Аргинин 24, 320, 415, 436, 438–440, 444, 445, 458, 472
Аргининосукцинат 435, 440, 451
Аргининосукцинатсинтетаза 448
Аргининосукцинатурия 450, 451
Аскорбиновая кислота (витамин С) 80, 304, 572, 574, 580, 583
Аспарагин 104, 312, 443, 491
Аспарагиназа 103, 104
Аспарагинсинтетаза 104
Аспартат 265, 285, 286, 417, 433–436, 440, 443, 482
Аспартатаминотрансфераза (АСТ) 102, 417, 428
Аспирин 92, 107, 374, 375, 381, 383, 558, 564
Атеросклероз 64, 160, 325, 355, 383, 384, 396–398, 403
Атропин 28, 29, 35, 111
Ca^{2+}-АТФаза 178, 179, 185, 187, 194
Na^{+}/K^{+}-АТФаза 107, 178, 194, 238, 239, 503
Ахилия 412, 426
Ацетальдегид 559, 560
N-Ацетилнейраминовая кислота (NeuAc) 175
Ацетилтрансацилаза 345, 358
Ацетилтрансферазы 564, 565
Ацетилхолин 28, 29, 35, 38, 89, 90, 107, 111, 181, 466
Ацетилхолинэстераза 29, 89, 90, 102, 107
Ацетил-КоА 96, 221, 222, 225, 230, 231, 275, 344, 510
Ацетил-КоА-карбоксилаза 231, 339, 345, 347–349, 358, 529
биосинтез жирных кислот 345, 509
регуляция липогенеза 343
Ацетоацетат 367–370, 380, 447, 460, 462, 532
Ацетоацетил-КоА 368–370, 388
Ацетон 369, 370, 380
Ацилтрансфераза 74, 331, 337, 339
Ацил-КоА-дегидрогеназа 378, 381
Ацил-КоА-синтетаза (тиокиназа) 331, 337, 363, 386
Ацил-КоА-холестерол-ацилтрансфераза (АХАТ) 386
Аэробный гликолиз 235, 262, 263, 265, 280

Б

Барбитураты, метаболизм в печени 212, 217, 282, 558, 560, 571
Белки 16, 31, 116, 145, 302, 408
активный центр 25, 37, 178
высаливание 56, 60, 61
главного комплекса гистосовместимости 51
G-белки 96, 180–182, 190, 195, 196, 372
денатурация 15, 16, 29–31, 36, 48
дисульфидные связи 22, 23, 31, 52, 53
домен 27, 28, 33, 49
конформационная лабильность 15, 22, 29, 33, 35, 36, 40
мембранные 173, 175, 176
интегральные и поверхностные 176, 184
переваривание 27, 407–410, 412–415, 424, 426, 427
плазмы 26, 39, 61, 64, 574, 585, 589, 602
растворимость 21, 34, 36, 56, 63
SSB-белки 119, 120, 130
семейства белков 50, 51, 61
структура вторичная 19, 20, 21, 33, 34, 36, 58
первичная 18, 19, 26, 30, 34–36, 51
методы изучения 153
супервторичная 23, 34
третичная 21, 22, 27, 31, 33, 34, 36, 58
четвертичная 40, 58, 59, 61
субъединицы 24, 48–50, 53, 96, 195
теплового шока 48, 61
фолдинг 18, 19, 26, 36, 48–50, 140
хроматина 116, 153, 154, 167, 517
пищевая ценность 424
синтез 135, 168
и генетический код 151
ингибиторы 28, 40

инициация 52, 137, 148, 151
терминация 124, 125, 136, 139, 148, 151
элонгация 124, 125, 136, 148, 151
Белок ацилпереносящий (АПБ) 345
Бензантрацен 561
Бикарбонаты 45, 238, 330
Биливердин 1Х-ос 575, 581, 582,
Биливердинредуктаза 575, 581
Билирубин, 26, 554, 570, 575–584,599
конъюгация 384, 391, 392, 399, 401, 403, 551, 576
Биотин 71, 80, 82, 107, 300, 345, 425, 580
1,3-Бисфосфоглицерат 46, 263, 267, 269, 275, 277, 279, 285, 586, 600
2,3-Бисфосфоглицерат (ДФГ) 46, 269, 279, 586, 600
Бисфосфоглицератмутаза 269, 282, 586, 606
Бисфосфоглицератфосфатаза 269
Бифункциональный фермент (БИФ) 289–291
Болезнь Аддисона 518, 519
Андерсена 252
Альцгеймера 474
Гирке 252
Грейвса 512
Паркинсона 453, 465, 469, 473
Кори 252

В

Вазопрессин (АДО) 32, 183, 256, 498, 533, 537
Варфарин 592, 604, 608
Валин 139, 415, 428, 442, 451
Вирус 40, 141, 150, 161, 168, 234, 438, 523
Витамин А 331, 340
B_1 72, 80, 221, 272, 276
B_2 71, 80, 82, 85
PP (B3) 71, 80, 276, 306, 490
пантотеновая кислота (В5) 72, 80, 221, 232, 470
B_6 71, 80, 278, 305, 417, 453, 458, 474, 580
биотин (Н) 71, 80, 82, 107, 300, 345, 580
фолиевая кислота (Вс0, В9) 72, 80, 109, 407, 453, 455, 583
B_{12} 413, 453, 457, 458, 474, 583
С 322,461, 573
D 328, 340
D_2 и D3 385, 539, 540, 542, 544, 546, 547
Е 328, 340
К 592, 604, 607, 608
Витамины 305, 328, 330, 332, 333, 340, 425, 469, 599
водорастворимые 80
жирорастворимые 328, 330, 332, 333, 340
Водородные связи 19, 20, 22, 30, 31, 33, 34, 115–117, 302, 304
Вторично-активный транспорт 178, 179, 238, 239, 256, 415

Г

Галактоза 237, 239, 255, 258, 312
α-, β-Галактозидаза(ы) 143
β-Гликозидаза(ы) 237, 238, 251, 255, 258
γ-Глутамилтранспептидаза 102, 416
Ганглиозиды 174,
Гастрит 102, 412, 426
Гексокиназа 27, 240, 255, 257, 263, 270, 288, 586
Гем 26, 41–47, 62, 147, 570, 571, 584
катаболизм 570, 572, 575
Гемоглобин(ы) 15, 26, 43, 229, 527, 573
оксигенированный 62
регуляция функций 61
фетальный 43
Гемоглобинопатии 228
Гемопротеины железосодержащие 562
Гемосидерин 573, 574, 581
Гемофилии 162, 596, 607
Гемохроматоз 570, 574, 581, 582
Ген(ы), амплификация 159, 162
β-глобина 134, 154, 170, 171
делеции и вставки 158, 159, 164, 166, 167
иммуноглобулинов, перестройка 154
индуцируемые 308, 349, 555
репрессируемые, регуляция экспрессии 135, 141, 145, 183, 292
рецептора ЛПНП 332, 386, 394–398, 401, 403
транскрипция 145, 150, 156, 165, 389, *400, 573*
регуляция 151
Генетические перестройки 153–156, 167
Генетический код и синтез белка 135, 151, 168
Генная инженерия 153
Гепарансульфат 315, 319, 320
Гепарин 312, 596, 597, 603, 604, 606
Гетерополисахариды 240, 301, 311, 413, 596, 597
Гетерохроматин 154, 168
Гиалуронидаза 103, 314, 321, 324
Гиалуроновая кислота 309, 311–316, 319–321

Гибридизация ДНК и РНК 117, 118
β-Гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа 365
21-Гидроксилаза 506, 513
7α-Гидроксилаза 391, 392, 401, 402
Гидроксилизин 147, 302, 305, 310
β-Гидрокси-β-метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА) 389
Гидроксиметилглутарил-КоА-редуктаза (ГМГ-КоА-редуктаза) 388–390, 392, 399–403
Гидроксиметил глутарил - Ко А-синтаза (ГМ Г- КоА-синтаза) 369
Гидроксипролин 147, 302, 304, 309, 310, 321
Гидролазы 73, 75, 81, 83, 107, 558
Гидрофобные взаимодействия 21, 22, 25, 34, 44, 49, 116
Гипераммониемия 407, 429, 437–439, 445, 448, 450
Гипераргининемия 439, 448, 450
Гипербилирубинемия 576
Гипергликемия 251, 294, 298, 526
Гиперлипопротеинемия 397, 525
Гиперпаратиреоз 542, 548
Гипертиреоз 459, 512, 514
Гиперурикемия 252, 480, 481, 491, 493, 494
Гиперфенилаланинемия см.
Гиперхиломикронемия 326, 334, 340, 397
Гиперхолестеролемия 384, 397, 400, 402, 403, 405
  семейная 397, 403
Гипогликемия 294, 298, 378
Гипоксантин 122, 479–481, 490
Гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза 479, 481, 488
Гипоксия 219, 228, 229, 233, 266, 280, 282, 287, 525, 568
Гипопаратиреоз 542, 548
Гипотиреоз 512, 519
Гипофиз 497, 498, 500–502, 504, 512, 538, 543
Гистамин 55, 462, 463, 465, 468, 497
Гистидаза 421–463
Гистидин 24, 44, 142, 148, 302, 407, 420, 453, 460
Гистидинемия 463, 473
Гистон(ы) 24, 116, 117, 122, 133, 154
  в хроматине 116, 154
Гликоген 235, 236, 241–254, 257–261, 280, 288, 510
Гликогенозы 251, 254, 259
Гликогенолиз 235, 241, 259, 294
Гликогенсинтаза 241, 242, 245–248, 254, 293, 508
Гликогенфосфорилаза 244–249, 253, 293, 508
  мышечная 249, 254
Гликозаминогликаны 301, 302, 311, 312, 314, 319, 320, 322
Гликолиз 262, 295, 447, 517, 586
  анаэробный 262
  аэробный 262
  последовательные стадии 138
Гликолипиды 174, 327
Гликохенодезоксихолевая кислота 391
Гликохолевая кислота 391, 392
Глицеральдегид-3-фосфат 264, 265, 271, 277, 278 Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа 263, 278
Глицерол 220, 241, 299, 333, 334, 337, 350, 353, 511
Глицеролкиназа 350
Глицерол-3-фосфат 264, 299, 337, 351, 357
Глицерол-3-фосфатдегидрогеназа 264
Глицерофосфатный челночный механизм 263, 280
Глицерофосфолипиды 174, 326, 459
Глицин 233, 269, 302, 323, 391, 392, 407, 458, 578
Глобин 134
Глутамат 137, 233, 265, 299, 408, 439, 461, 471
Глутаматдегидрогеназа 420, 432, 437, 446, 448, 449
Глутаматпируватаминотрансфераза (ГПТ) 446
Глутамин 76, 430–433, 437, 464, 601
Глутаминаза 430, 431, 444, 446
Глутаминовая кислота (глутамат) 74–76, 109, 415, 444, 554, 593
Глутаминсинтетаза 76, 430, 443, 446
Глутатион 272, 274, 276, 373, 416, 454, 555, 586
Глутатионпероксидаза 555, 556, 587, 603
Глутатионредуктаза 586, 603, 606
Глутатионтрансфераза 555, 564–566
Глюкагон 104, 245, 289, 293, 351, 499, 514, 524
  биосинтез и метаболизм 502
Глюкоза 21, 68, 236–244, 268, 344, 367, 501, 559
  всасывание 239
  катаболизм 235, 240, 262, 265, 266, 276, 280
  метаболизм 241, 586

синтез жирных кислот 343, 344, 349, 358, 359
толерантность 524
транспорт 239, 240, 257, 351, 509, 510
Глюкозо-аланиновый цикл 433–445, 447
Глюкозо-1-фосфат 68, 242–244, 247, 260
Глюкозо-6-фосфат 68, 96, 240, 242–244, 247, 254, 508
Глюкозо-6-фосфатаза 68, 243, 260, 287, 292
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа 68, 274, 344, 516, 587, 607
Глюкозурия 523, 531
Глюкокиназа 240, 246, 255, 258, 508
Глюкокортикоиды 374, 505
Глюконеогенез 235, 284–292, 295–299, 433, 513
в печени, регуляция 288
при голодании 284
регуляция 288, 298
Глюкуроновая кислота 311, 320, 507, 555–557, 564
Голодание 228, 243, 289, 290, 459, 521, 522
Гомеостаз 22, 38, 48, 173, 191, 235, 325, 391, 533
Гомогентизиновая кислота 461, 462, 464, 472, 474
Гомоцистеин 457, 458, 474
Гомоцистинурия 458, 474
Гормон адренокортикотропный. См. также Адренокортикотропный гормон (АКТГ) 501, 507, 514, 515, 518
антидиуретический (АДГ) 533–536, 538, 543
меланоцит-стимулирующий (МСГ) 501, 513
паратиреоидный (ПТГ) 539, 540, 544
роста-рилизинг-гормон. См. также Соматолиберин 503
роста человека
тиреотропный (тиреотропин, ТТГ) 499, 500, 512
Гормон-рецепторный комплекс, связывание с ДНК 152, 182, 192, 247
Гормоны 104, 145, 292, 381, 498, 514, 571
цАМФ как вторичный мессенджер 181, 183
гипоталамуса 500, 543
гипофиза передней доли 500, 534
желудочно-кишечного тракта 497
механизм действия 172, 260, 499
коры надпочечников 150, 506
мозгового вещества надпочечников 461
половых желез 387
рецепторы 25, 499
роста (ГР) 162, 496, 503
регуляция секреции по механизму обратной связи 515
биосинтез 500
тиреоидные 181, 192, 392, 499, 514, 519
щитовидной железы 504, 512
Гуаназа 480, 488, 490
Гуанилатциклаза 191, 198, 500, 538, 547
мембранная 191
Гуанин 114, 122, 126, 129, 158, 561
Гуанозин 114, 480, 486
Гуанозинмонофосфат 114
циклический (цГМФ) 188, 189, 191, 197, 476
Гуанозинтрифосфат 126, 132, 136, 137, 139, 224

Д

Дегидрогеназа жирных кислот, дефект 378
NADH-Дегидрогеназа 205, 211, 213–215, 220
Дегидрогеназы 264, 470, 577
QH_2 205, 207, 211–215, 220
NAD-зависимые 204, 205, 210, 214, 220, 228, 263, 559
NADP-зависимые 225
7-Дегидрохолестерол 540, 541, 545
Дезаминирование аминокислот 421, 446
Дезоксирибонуклеаза (ДНКаза) 83, 103
Дизоксирибонуклеозидтрифосфат в синтезе ДНК 124
Дезоксихолевая кислота 392
Декарбоксилирование окислительное 219, 221, 222, 229, 272,
пирувата 219, 221, 229, 233
аминокислот 555
Депуринизация 122, 130
Денатурация белков 15, 29, 36, 56
ДНК 162
Денатурирующие агенты 15, 29–31, 36, 56
Дерматансульфат 309, 312, 319, 320
Десмозин 310, 311, 320
Детергенты 392
Диабет нефрогенный наследственный 535, 548
сахарный 260, 294, 355, 361, 367–370, 523, 532
инсулинзависимый типа 523
(ИНСД) 523
метаболизм сорбитола 528
Диацилглицерол(ы) 181, 186, 187, 279, 329

Дигидроксиацетонфосфат 263, 267, 269, 285, 350, 351, 357
3,4-Дигидроксифенилаланин (ДОФА) 461, 462, 464, 465, 471
Дигидрооротатдегидрогеназа 481, 482
Диизопропилфторфосфат (ДФФ) 91, 92
Дикумарол 592, 593
2,4-Динитрофенол 208, 213, 216, 218
Диоксигеназы 461, 462, 464
Дипальмитоилфосфатидилхолин 336
Дипептидазы 413, 415, 424, 537
Дисахариды 236–238, 250–252, 255, 258, 311, 319
структура 319
Дислипопротеинемия 325, 384, 396, 397, 403
Дисульфидные связи в белках 22, 23, 31, 140, 274, 587
Дитилин 29, 38, 604
Дифтерийный токсин 149
Диффузия 45, 175, 176, 178, 209, 528
облегченная 194, 238, 239, 255, 430, 576
простая 255
бороздка большая 24
N-гликозилаза 122, 131, 132
делеции, вставки и перестройки 158, 159, 164
липкие концы 161, 168
матричная цепь 124, 125, 128
метилирование 126, 154, 458, 562
мутации 158–160, 166
репликация 113, 118, 121, 122, 129, 130, 133, 162, 492
повреждения химическими канцерогенами
полимеразы (α,β,γ,) 120, 129, 131
полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) 164, 169, 170
рекомбинантные, технология 113, 153, 160–162, 168, 169
ориджин репликации 121
полуконсервативный механизм 122
репликон 121
синтез, инициация 137, 148, 151
S-фаза 122
топоизомеразы 118, 119, 130, 152
фрагменты Оказаки 119–121, 129–132
хеликаза 119, 120, 131
химерные молекулы 153
энхансеры 144, 145, 150, 151, 192, 196, 500
ДНК-лигаза 120, 121, 123, 130–132, 161, 167
ДНК-топоизомераза 118, 119, 130, 152
ДОФА-декарбоксилаза (ДП) 462, 465, 471
Дофамин 461, 462, 465–468, 471, 472, 560
Дофамингидроксилаза 462, 471
Дыхательная цепь 202, 212, 234, 268, 270
Дыхательный контроль 201, 208, 213, 216, 217, 226

Е

Еноил-редуктаза 207, 358, 359, 365

Ж

Железо 44, 46, 304, 572–574, 578, 580, 581
всасывание железа в кишечнике 581
Желтуха 404, 568, 570, 576–578, 581–584
гемолитическая (надпеченочная) 568, 577, 581, 582, 584
новорожденных 577, 582, 584
печеночно-клеточная (печеночная) 577, 582
механическая или обтурационная (подпеченочная) 577, 582
Желудочно-кишечный тракт, гормоны 98, 235, 238, 251, 252, 407, 408, 410, 411, 424, 497
желудочный сок, кислотность 236, 238, 407, 412, 413, 426, 427
Желчные камни, образование 330
Желчь 330, 391, 392, 553, 573, 575, 577, 580
Жир(ы) 220, 228, 326, 352, 361, 508
мобилизация 325, 361, 377, 381, 522
ресинтез 325, 329, 331, 340
переваривание 329, 340
Жирные кислоты 26, 173, 228, 326–328, 343, 350, 524
активация 331, 338, 364, 386
насыщенные, биосинтез 173, 336, 345, 509, 517
β-окисление 325, 356, 363, 366, 377
полиеновые 328, 331, 347, 371, 374
перекисное окисление 175, 328, 402, 554, 560
регуляция синтеза 347
Жировая ткань 326, 334, 351, 356, 508, 523

З

Заякоренные белки 176, 181, 184, 197, 200

И

Изолейцин 148, 415, 441, 442, 451
Изомераза(ы) 73, 76, 81
Изониазид 569
Изоферменты 100, 101, 106, 108, 281, 366, 418, 554

Изоцитрат 220, 223, 226, 268
Изоцитратдегидрогеназа 73, 214, 226–228, 231
Иммуноглобулины 15, 21, 23, 39, 50–55, 155, 599
домены 52–55, 154
область вариабельная (V) 154, 155
гипервариабельная 52
константная (С) 21, 52, 54, 55
кооперативность 94
Ингибиторы дыхательной цепи 212
Индол 555–557, 564
Инозин 488
Инозинмонофосфат (IMP) 109, 420, 477–479
Инозитолтрифосфат (ИФ3) 178, 181, 186, 187
Инсулин 23, 27, 99, 146, 200, 245, 350, 532
биосинтез 500, 502
регуляция секреции 523
структура 23
проинсулина 500, 502, 523
утилизация глюкозы 341, 526
фосфорилирование-дефосфорилирование белка 104
Инсулиновая недостаточность 514, 527
Инсулиновый рецептор 200
Инсулиноподобный фактор роста (ИФР)
Интрон(ы) 126, 127, 131, 155–157, 309, 397
Ионные связи 34, 47

К

КАД-фермент 481–483, 491
Калликреин 595, 596, 598
Кальмодулин 186, 187, 196, 197, 248, 249, 254
Кальций 156, 178, 249, 539, 547
Кальций-связывающий белок 547
Кальцитонин (КТ) 156, 165, 496, 539, 540
механизм действия 496, 539
Кальцитриол 200, 539, 540, 542, 544
механизм действия 200, 539,
Кальциферол 539
Карбамоилфосфат 433, 436, 440, 447, 482, 491
Карбамоилфосфатсинтетаза I 433, 434, 436, 438, 446
Карбоксипептидаза 411, 413–415, 422, 424
Карнитин 364, 382, 383, 409, 446, 457, 458
Карнитин-ацилтрансфераза I 364, 366
Карнозин 484
Катаболизм 45, 266, 282, 429, 477, 481
Катаболические процессы 104, 512
Каталаза 570, 586
Катализ, ионы металлов 65, 66, 68, 70, 76, 83, 91, 145, 461, 599
Каталитический центр ферментов 95
гипотеза индуцированного соответствия 68
Катехоламины 461, 466, 472, 551
Кератансульфат(ы) 312, 313, 319, 320
Кетоацидоз 325, 361, 367, 370, 381, 525, 529
α-Кетоглутарат 74, 226, 265, 420, 437, 440
Кетонемия 361, 369, 381, 451, 524, 531
Кетоновые тела 325, 361, 366, 367, 527
Кетонурия 361, 370, 381, 525, 526, 531
Киназа(ы) 221, 227, 248, 390, 482
фосфорилазы 245, 247–249, 253
Ковалентные связи 91, 105, 107,
пептидные 17, 18, 32, 409, 410, 593
дисульфидные 23, 31, 503
Кодон(ы) 127, 135–139, 146, 158, 170
Колинеарность 135, 136, 151
Колипаза 329, 330, 336
Коллаген 301–309, 314, 316, 321, 323
синтез 305, 309, 322, 323
строение 323
тройная спираль 307, 308
Коллагеназа 307, 319, 321, 322
Коллагеновые фибриллы 303, 305, 307, 317
Кора надпочечников 272, 387, 538, 552,
гормоны 387
Корепрессор 142, 144, 145, 389, 392, 400, 468
Кортизол 150, 292, 436, 507, 515
Кортикостероид-связывающий глобулин (транскортин) 602
Кортикостерон 507
Кортикотропин-рилизинг-гормон (кортиколиберин) 507
Кости, минерализация 542, 544
Кофакторы 65, 70, 83, 129, 136, 461
Кофермент А (КоА) 72, 80, 82, 232, 331,
синтез 331
Q 204, 205
Коэффициент де Ритиса 418, 419, 425, 426
Крахмал 35, 236–238, 241, 251, 252, 253, 428
Креатин 102, 409, 457–459, 469
Креатинин 453, 459, 473
Креатинкиназа 101, 102, 106, 112, 459
Креатинфосфат 101, 102, 459
Крезол 555, 556, 564
Кровь, плазма 23, 45, 46, 53, 238, 384, 385, 558
свертывание 376, 589, 590, 607

Ксантин 122, 480
Ксантиноксидаза (ксантиндегидрогеназа) 480, 481, 488, 490
Ксантозинмонофосфат (КМФ) 108, 109, 478, 479
Ксенобиотики, метаболизм 272, 276, 550, 551, 553–555, 564, 567

Л

Лактаза 237, 251
Лактат 100, 243, 263–265, 268, 284, 299, 510
Лактоацидоз 268, 278, 280, 284, 287, 297, 527
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) 73, 84, 100, 112, 281
Лактоза 143, 148, 236, 237, 239, 251
Ламинин 301, 302, 307, 314–317, 321, 322
Ланостерол 388
Лейкотриены 371, 373, 374, 381
Лейцин 24, 151, 415, 428, 446, 451, 452
Лиаза(ы) 71–73, 75, 81, 83
Лигазы 71–73, 76, 82, 83, 107, 345
Лизин 24, 116, 222, 306, 320, 415, 446
Лимонная кислота 270
Линолевая кислота 328, 337, 340
α-Линоленовая кислота 328, 337, 340
Липаза 73, 102, 329, 330, 336, 395, 524
гормончувствительная 524, 336, 362, 363, 381
панкреатическая 329, 330, 336, 340
Липидный бислой 173, 176, 181, 565
Липиды 173, 174, 194, 326, 328, 329, 331, 333, 404
всасывание 325
перекисное окисление 560, 588
транспорт 332
Липогенез 343, 359
регуляция ацетил-КоА-карбоксилазы 348
Липоевая кислота 72, 80, 221, 222, 231
Липоксигеназный путь 374
Липоксигеназы 373, 374, 381
Липолиз 366, 368, 399, 499, 510, 517
Липопротеинлипаза 332–334, 336, 350, 352, 395, 405
Липопротеины 325–327, 331–335, 393, 404
высокой плотности (ЛПВП, а-липопротеины) 332, 333, 335, 350, 395, 396, 398, 405
низкой плотности (ЛПНП, р-липопротеины) 332, 335, 352, 394–399, 401–405, 505
очень низкой плотности (ЛПОНП) 332, 334–336, 350–353, 360, 400
промежуточной плотности (ЛППП) 332, 352, 394, 395, 397
Литохолевая кислота 392, 401

М

Макроэргическая связь 149, 264, 364, 370, 435
Малат 74, 74, 207, 214, 216, 268, 285, 344, 420
Малатдегидрогеназа 73, 74, 231, 265, 344, 435
Малик-фермент 225, 344, 345, 349
Малонил-КоА 345–349, 357, 358, 364, 366
Мальтаза (ос-глюкозидаза) 237
Мальтоза 236–238, 255, 256, 258
МАР-киназа 190, 191, 197,
МАР-киназный каскад 190
Мевалонат 388–390, 399
Меланины 461, 462, 464, 471
Мембрана(ы), активный транспорт 177, 195
асимметрия 177, 591
жирно-кислотный состав 194
митохондриальная 185, 205, 209, 213, 264, 356
транспортные системы 173
текучесть 173–175
транспортные системы
антипорт 175, 187, 195, 285
симпорт 175, 178, 195, 255, 256, 415
Менструальный цикл 513
Метаболиты 93, 95, 224, 474, 564
Метаболические пути 66, 240, 499
локализация 108
регуляция 87
Метгемоглобинредуктаза 586, 606
N5, N10 -Метенил-Н4-фолат 478
Метилдофа 557
Метилтрансфераза 74, 462, 468, 470, 564
Метионин 302, 320, 407, 415, 444, 453, 456–458
активация 469
регенерация 453, 457, 469, 470, 472
Миелопероксидаза 588, 603
Микросомы, цитохром Р-450 552, 553, 555, 560, 562
Минерализация костей 542, 544
Минералокортикоиды 505, 513
синтез 505
Миоглобин(ы) 20, 26, 31, 39–44, 51, 58, 61, 570

Миорелаксанты 29
Миссенс-мутации 158, 159, 167
Митохондриальная мембрана 185, 205, 209, 213, 264, 356
транспортные системы 173
Митохондрии 172, 207, 216, 263–268, 344, 570
организация 202, 212, 234, 268, 270
Михаэлиса константа 79, 81, 83
Мозг, аминокислоты 101, 239, 366, 368, 431, 477, 511
Моноаминоксидаза (МАО) 110, 465, 468, 469, 475
Моноацилглицерол 329–331, 337
Моноеновые кислоты 337
Монооксигеназы 461
Моносахариды 238, 240, 250, 253, 258
Мочевая кислота 480, 481, 486, 490, 494
выделение из организма 480
из пуриновых нуклеозидов 480, 486,
Мочевина 30, 31, 99, 202, 431, 433, 436, 440, 450
Мутации 124, 157, 158–160, 164–170, 234, 309, 355, 596
глобиновых генов 170
сдвига рамки считывания 158, 159, 167
точечные 158
Мышцы 41, 101, 199, 252, 281, 286, 293, 350, 459

Н

Надпочечники, мозговой слой 379, 461, 462, 466, 513, 538
Нейромедиаторы 28, 35, 110, 180, 408, 437, 476, 502
Нидоген 314–317, 321
Никотинамид 71, 232
восстановленный (NADH) 204–207, 212, 223, 586
Никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADP) 71, 73, 80, 214, 225, 351, 600
восстановленный (NADPH) 225, 271, 274, 343, 508
восстановления
Норадреналин 209, 217, 362, 461, 462, 465, 468
Нуклеазы (5'-экзонуклеазы) 73, 75, 118
Нуклеиновые кислоты, структура и функция 108–110, 114, 115, 117, 133, 141, 483
Нуклеосомный кор 116
Нуклеосомы 116, 117, 133, 154
Нуклеотидазы 480, 490
Нуклеотиды 114, 120, 159, 478, 481–483

О

Облегченная диффузия 194, 238, 239, 255, 430,
Обмен промежуточный 202, 417
Одноуглеродные группы 454, 455
Ожирение 353–355, 359, 360, 523
Окаймленные ямки 177, 180
Окисление 81, 110, 175, 203, 353, 587
жирных кислот длинноцепочечных 325, 353, 363 366,
Оксалоацетат 74, 207, 228, 285, 344, 440
Оксигеназы 74, 170
Оксидаза(ы) 74, 82
Оксидоредуктазы 73, 81–83, 107, 488
Окситоцин 32, 498, 619
Олеиновая кислота 328, 337, 340, 359, 378
Олигосахариды 156, 175, 237, 238, 241, 242
Оператор 142–144, 147
Оперон 142–144, 151
триптофановый 142
Орнитин 436, 439, 440
Орнитин-карбамоилтрансфераза 434, 436, 439, 440, 448
Оротат-фосфорибозилтрансфераза 489

П

Пальмитолеиновая кислота 328
Пантотеновая кислота 221, 232, 470
Паракринный эффект 371, 372, 518
Паратиреоидный гормон (ПТГ), биохимия 539, 540, 544
Паращитовидные железы 539, 540, 542, 548, 549
Пассивный антипорт 195, 289
Первично-активный транспорт 178, 195, 238, 255, 256
Пентозофосфатный путь 235, 262, 271–273, 280, 345
Пентозы 271, 272, 276, 280
Пепсин 73, 78, 99, 102, 409, 411–413, 422, 424
Пепсиноген 99, 411, 412
С-Пептид 501, 502, 514, 532
Пептидгидролазы 409, 413, 426
Пептидилтрансфераза 138, 152
Пептидил-тРНК 149
Пептиды 32, 99, 139, 146, 158, 304, 414, 422, 501–503
первичная структура 33, 305
строение 17
Перилипин 362, 363
Пероксидаза(ы) 373, 374, 381, 570

Печень 85, 101, 239, 252, 286, 333, 386, 433, 523, 575
гликоген 294
кетоновые тела 367
обезвреживание токсических веществ 550, 551
Пиридоксальфосфат 74, 75, 82, 107, 279, 417, 465
Пиридоксин, основные свойства 107, 232, 470
Пиримидин(ы) 114, 483, 484, 487, 489
катаболизм 484
Пируват 74, 96, 219–230, 286, 344, 440
окисление 265, 266, 277, 278
Пируватдегидрогеназный комплекс 221, 226, 227, 231, 269, 287
Пируваткарбоксилаза 73, 83, 224, 230, 231, 285, 290
Пируваткиназа 20, 95, 263, 290–292, 508, 577
Пищеварение 202, 240, 241, 246, 270, 290–294, 507
Плазма крови, белки 98, 100, 101, 367, 480, 520, 599
Плазмин 308, 596, 598, 604–606, 608
Плазминоген 592, 595, 598, 604, 608
Подагра 476, 480, 481, 491, 493, 495
Поджелудочная железа, гормоны 27, 91, 102, 238, 408–413, 502
островки Лангерганса 239, 300, 502, 523
Полидипсия 525, 527
Полиеновые жирные кислоты 328, 331, 347, 371, 374
Полимераза бета (β) 120, 123, 130–132
Полимеразы альфа (α) 130–132
Полипептид(ы) 17, 36, 49, 139, 500, 502, 540
Полирибосомы (полисомы) 304, 502
Полисахариды 26, 180, 236, 238, 241, 316
Полиурия 525–527, 535, 543, 545, 600, 606
Порфирии 570–572, 578, 582
Порфобилиноген 570, 571, 580, 583
Посттрансляционные модификации 135, 139, 145, 146, 151, 156, 176, 200, 310, 323
Прегненолон 505, 506, 515
Прекалликреин 595
Пре-мРНК, сплайсинг 126, 156, 165
Прогестерон 308, 505, 506, 515
Прозерин 89, 90, 107
Проинсулин 500–502, 523
Прокарбоксипептидаза 414
Проколлаген 303, 304, 322, 323
Пролилгидроксилаза 304, 309, 321
Пролин 17, 19, 52, 302–304, 309, 415, 417, 444, 452
Промотор 124, 125, 131, 141–145, 147, 159, 192
Простагландины (ПГ) 92, 371, 372–374, 380, 554
Простациклины 371, 375, 376
Протеаза(ы) 18, 61, 75, 170, 176, 307, 422, 501, 591
Протеин С 592, 596, 597, 601, 603–605, 608
Протеин S 597, 603, 605
Протеинкиназа(ы) 75, 86, 98, 122, 185, 187,
Протеинкиназа А 96, 97, 182, 183, 199, 247
Протеинкиназа С 186, 187, 194, 248,
Протеинкиназа G 191
цАМФ-зависимые 97, 199, 249, 252
тирозиновая 187–189
Ca^{2+}/кальмодулин-зависимая 185, 187
Протеинфосфатаза 188, 189
Протеогликаны 301, 302, 312–315, 317, 512, 527
Протомеры 39, 40, 47, 221, 228
Протопорфирин 570, 580
Протромбин 591–596, 602, 603, 605, 607
Проферменты 410–412, 414, 422, 426, 593, 598
Проэластаза 411, 414
Пуриннуклеозидфосфорилаза 480, 486–488, 490
недостаточность 486–488
Пуриновые и пиримидиновые основания 483
Пурин(ы) 114, 477, 480, 481, 487, 490, 494,
катаболизм 480, 481, 493

Р

Радиоавтография 165
Рахит 533–544, 548, 549
Реакции анаплеротические 233, 420, 442, 445
окислительно-восстановительные 82, 212, 265, 277, 356
разобщение дыхания и фосфорилирования 208, 209
сопряженные 214, 268, 276, 281, 282
Ренин 73, 535–539, 545, 547, 596
Репарация 14, 113, 122–124, 129, 130, 132, 133, 585
Репликация 14, 113, 118, 121, 122, 128–130, 141, 162, 484, 562
Рестриктазы 161, 168, 170

Рецепторы
гормонов 499
структура 197, 397
инсулина 188–200, 523
ЛПНП 332, 386, 394–398, 403–405, 515
Рибозо-5-фосфат 108, 109, 269, 271, 273, 477, 478
Рибонуклеотидредуктаза (РНР) 484–487
Рибонуклепротеины малые ядерные (мя РНП) 126, 131, 133
Рибосома 41, 49, 128, 136–141, 145–147, 151, 502
РНК (рибонуклеиновая кислота) 25, 31, 113–118, 124–126, 135, 484, 487
матричные (мРНК) 18, 26, 49, 93, 116, 135–146, 160, 309, 508
транспортные (тРНК) 116, 137, 149–151
рибосомные (рРНК) 116, 117, 124, 133, 139
РНК-праймер 120, 130–132

С

Сайленсер 145, 150, 151, 192, 500
Сахараза 73, 273
Сахароза 236–238, 251, 258, 259
Серин 91, 92, 140, 174, 175, 183, 189, 269, 312, 407, 444, 453
Серотонин 55, 110, 464–468, 475, 560
Серповидноклеточная анемия 36, 164, 170
Синдром 99, 355, 464, 513, 514, 580
Альпорта 309,
Иценко—Кушинга 496, 513,
Леша—Нихена 476, 481, 488, 491, 493, 494,
Элерса—Данлоса 309, 323,
Синтез белка, ингибиторы 116, 135, 136, 139, 168, 503
Скатол 555–557,
Слюна 54, 236, 237, 253, 463
Соли аммония 409, 429, 431, 444, 450, 451
Соматолиберин 503
Соматостатин 162, 501, 503
Сорбитол, метаболизм 528
Сплайсинг 126, 127, 130, 145, 153, 156, 157, 165, 309
альтернативный 145, 153, 156, 157
Стероидные гормоны надпочечников, метаболизм и экскреция 387, 506
транспорт в крови 506
Стероиды 225, 327, 385, 390, 505
Субстраты, специфичность 67, 68, 82, 86, 104, 129, 133, 161, 189, 343, 488, 522
Сукцинатдегидрогеназа 73, 83, 89, 205, 220, 224, 230
Сукцинаттиокиназа 223, 231
Сукцинил-КоА 220, 223–226, 233, 370, 440, 484, 570
Сульфаниламиды 109, 110, 456, 557, 571, 578, 583
«Сульфат активный» (ФАФС) 476, 553, 555
Сульфотрансфераза 553, 555–557, 563, 564, 566
Супервторичная структура 23, 24, 33, 34
Супероксиддисмутаза 21, 586–588, 606
Супероксид-анион 586–588, 603, 607
Сурфактант 327, 336
Сфингозин 174, 175, 326
Сфинголипиды 326, 328, 340
Сфингомиелины 174, 175, 454
Сфингофосфолипиды 174

Т

Таурин 391, 392
Таурохенодезоксихолевая кислота 391, 401
Таурохолевая кислота 336, 391
Тельца Хайнца 274, 283, 587, 606
Термогенин 212, 621
Тестостерон 506
Тетрагидробиоптерин (Н4-БП) 74, 460, 464
Тетрагидрофолат (Н4-фолат) 72, 444, 454, 585, 486
Тетраиодтиронин (тироксин, Т4) 192, 461, 499, 500, 514, 599
Тиамин (витамин В,) 72, 232, 470
Тиаминдифосфат 272, 279
Тимидилатсинтаза 485, 486, 489, 493
Тимидин 114, 486, 492
Тимидинкиназа 486, 492
Тимин 114, 116, 130, 158, 484, 488, 491
Тиоредоксин 484, 485, 489, 492
Тиоредоксинредуктаза 484, 492
Тиреоглобулин 503, 504, 512
Тиреоидные гормоны, биосинтез 181, 192, 392, 499, 514, 519
механизм действия 519
Тиреотропин 499, 500, 512
Тирозин 187, 189, 190, 302, 407, 444, 453, 460–464, 503, 555
Тирозиназа 462, 464
Тирозингидроксилаза 461, 465, 471
Тироксин (тетраиодтиронин, Т4) 192, 257, 461, 499, 514, 599
Тканевый активатор плазмина 598
Токсины 16, 28, 113, 140, 160

Топоизомеразы 118, 119, 130, 152
Трансаминаза(ы) 417
Трансаминирование 82, 265, 407, 417–420, 426, 442
Транскетолаза 272, 273, 276
Транскрипция 26, 113, 124, 125, 129, 130, 143, 162
  промотор 124, 125, 131, 141–144, 147, 159, 192
  сайт терминации 124, 125
  транскриптон 124
Трансмембранная передача сигнала 172, 180, 198, 200, 248, 253, 260, 292
Транспорт активный в мембранах 177, 178
Треонин 183, 189, 191, 312, 415, 420
Триацилглицерол(ы) 269, 326, 330, 335, 340, 473, 509, 525
  синтез 269
Триацилглицероллипаза (гормон-чувствительная, ТАГ-липаза) 362, 381, 510, 516, 529, 530
Трииодтиронин (Т3) 461, 503, 504, 599
Трипсин 27, 51, 72, 91, 103, 409, 414
Трипсиноген, активация 411–414, 422
Триптофан 142, 302, 310, 466, 556, 599
Тромбин 73, 589, 592–597, 601
Тромбоксаны (ТО) 371, 373, 374, 376, 377
Тромбомодулин 596, 597, 603, 605

У

Убихинон 204, 211, 212–215
Углеводы 220, 235, 236, 250, 252, 258, 314, 341, 353
  всасывание 235, 239, 250
  метаболизм 520
  регуляция 294
Угольная кислота, образование и диссоциация 45, 287, 433
Ультрафиолетовое излучение, образование пиримидин-пиримидиновых димеров 122, 540
Ультрацентрифугирование 57, 60, 61, 128, 334, 337
Урацил 114, 483, 491, 562
Уридинмонофосфат, УМФ 114, 481–483, 489
Уридин 114, 483, 495
UDP-глюкуронилтрансфераза 553, 556, 564, 576
УМФ-синтаза 481–483, 489, 495
Уридинтрифосфат (УТФ) 241, 242, 280, 476, 488
Уридин-цитидинкиназа 483, 489
Уробилиноген(ы) 575, 576, 579, 581, 582
Уроканиназа 463

Ф

Фагосомы 54, 588
Фагоцитоз 585, 588, 607
  эпидермиса (ЭФР) 190
Фенилаланин 415, 428, 444, 460, 462, 464
Фенилаланин-гидроксилаза 444, 460, 462, 464
Фенилацетилглутамин 438, 440
Фенилацетат 439, 440, 464
Фенилкетонурия 164, 464, 472
Фениллактат 464
Фенилпируват 464, 474
Фенобарбитал 557, 564, 576, 581, 583, 604
Фенол 30, 31, 555, 556
Феохромоцитомы 379
Фермент-субстратный комплекс 68, 69, 78, 83, 87
Ферменты 51, 65, 73, 93, 187, 204, 237, 271, 487, 553
  активность 65, 66, 76, 78, 83, 93, 562
    влияние глюкагона 236, 247, 508, 510
      инсулина 236, 240, 246, 532
  аллостерические 93–96, 105, 228, 270, 294, 478, 484
  и коферменты в окислительно-восстановительных процессах 356
  ингибирование активности 87, 92, 93
    конкурентное 88–91, 108
    неконкурентное 91
  ионы металлов 70
  как белковые катализаторы 65, 66
  каталитический участок 67, 68
  кинетика 65, 76, 77, 83
  классификация 65, 73, 87
  механизм действия 65, 91
  множественные формы (изозимы) 160
β-окисления жирных кислот в митохондриях 325, 356, 361, 363
  простетическая группа 26, 70, 83, 89, 140, 570
  регуляция активности 65, 86, 93, 106
    аллостерическая 93, 108
    белок-белковыми взаимодействиями 93, 96, 97, 106

доступностью молекул субстрата и коферментов 93
фосфорилированием/дефосфорилированием 93, 97, 98, 104
частичным протеолизом 93, 98, 99, 106, 108, 308
Ферритин 572–574, 580–582
Фибрин 589, 592, 595, 597, 598, 601, 607
Фибриновый сгусток 589
Фибриноген 589, 590, 592, 595, 597, 600–604, 607
Фибринолиз 103, 589, 598, 607
Фибронектин 301, 302, 307, 314–316, 322, 590
Флавинадениндинуклеотид (FAD) 71, 73, 80, 222, 468, 552
Флавинмононуклеотид (FMN) 71, 73, 80, 552
Флавопротеин(ы) 552
Фолиевая кислота (фолат) 72, 80, 109, 407, 453, 455, 468
Фосфатаза(ы) 221, 227, 244, 348
Фосфатидилинозитол-4,5-бифосфат 178, 186, 187, 194
Фосфатидилсерин 194, 454
Фосфатидилхолин 194, 393, 395, 458
Фосфатидилэтаноламин 194
Фосфатидная кислота 173, 174, 350, 351, 357
Фосфодиэстераза(ы) 111, 183, 188, 198, 195, 250, 254, 261
Фосфоенолпируват 96, 263, 267, 271, 278, 285, 291
Фосфоенолпируват—карбоксикиназа (ФЕПКК) 285, 291, 292, 297
Фосфолипаза(ы) 181, 184, 186, 187, 374, 375, 377
А 330, 373, 374, 375, 377
С 181, 184, 186, 187, 194, 248, 250
Фосфолипиды 85, 173–175, 186, 194, 326, 330–333, 363, 454, 591
4'-Фосфопантотеин 345
Фосфопротеинфосфатазы 86, 98, 188, 245, 289, 293
5-Фосфорибозил-1-дифосфат (ФРДФ) 109, 477–479, 482, 483
Фосфорилирование АДФ 262, 263, 268, 275, 278
окислительное 201, 205, 206, 208, 209, 212, 216, 220
Фосфофруктокиназа 96, 270, 271, 285, 289, 292
Фруктозо-1,6-бисфосфат 95, 263, 267, 277, 292
Фруктозо-1,6-бисфосфатаза 292, 508
Фруктозо-6-фосфат 68, 96, 269–273, 289, 292
5-Фторурацил 487
Фумараза 75, 223, 231, 435
Фумарат 75, 89, 207, 214, 220, 223, 230, 420, 435, 460
Фумаратгидратаза 75

Х

Хиломикроны 325, 329, 331, 332, 333, 334, 338, 340, 386, 393, 395, 402, 404, 509
Химотрипсин 51, 92, 99, 103, 308, 409, 413, 414, 415, 422, 424
Химотрипсиноген 414,
Холевая кислота 392,
Холекальциферол 540, 541
Холестерол 150, 173, 174, 175, 269, 272, 325, 328, 330, 331, 332. 333, 342, 384–405, 515, 541
иосинтез 326, 387, 403
транспорт 326, 332, 393, 394, 395, 401, 403
эфиры 332, 395, 515
Холестеролэстераза 386, 400, 401
Холецистокинин 337, 392
Холин 89, 174, 175, 327, 374, 457, 474, 477, 488
Хондроитинсульфаты 312, 313, 319, 320

Ц

Циркуляция энтерогепатическая желчных кислот 392, 393, 403
Цирроз печени 64
Цистеин 269, 274, 283, 302, 310, 345, 442, 444, 454, 457, 470
Цитидин 144, 483,
Цитидиндифосфат (ЦДФ) 476, 488, 489
Цитидинтрифосфат (ЦТФ) 482, 483, 488, 489
Цитохром(ы) 26, 70, 205, 215, 229, 573
Р-450 391, 552, 553, 555, 560, 565, 567
Цитохромоксидаза 74, 205, 207, 211, 214, 215, 220
Цитрат 214, 222, 223, 225, 226, 227, 228, 230–233, 277, 343, 344, 348, 355, 358, 387, 447, 536, 559
Цитратсинтаза 223, 228, 231
Цитратлиаза 349
Цитруллин 434, 435, 436, 438, 439, 440, 452, 588
Цитруллинемия 448, 450
Целлюлоза 238, 258

Церамид 174, 175
Цереброзиды 174, 175
Цианид 212, 213, 217
γ-Глутамильный 415, 416
Кори 252, 286, 297, 298
Кребса 219, 222, 368, 433, 434, 445
лимонной кислоты 270
глюконеогенез 235, 284–288, 290–292, 294–299, 368, 420, 433, 437, 441
реакции 345
молочной кислоты 100, 151, 268, 287, 297, 413, 527
орнитиновый 408, 429, 433, 434, 436. 447, 525
трикарбоновых кислот ПО 219, 222, 279, 233, 418
Циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) 97, 183,
Циклооксигеназа 108, 680

Ч

Частичный протеолиз 98, 99, 108, 140, 308

Ш

Шапероны 48, 49, 50, 51, 140, 304

Щ

Щавелевоуксусная кислота см. Оксалоацетат 222, 228, 233, 285, 290, 299, 343, 368, 435, 522

Э

Эйкозаноиды 180, 325, 361,371, 372, 373, 379, 381,499
Эйкозапентаеноевая кислота 328, 373
Экзергонические реакции 202, 215
Экзон(ы) 126, 154, 155, 157, 165, 309, 397
Экзонуклеаза(ы) 120, 123,
Экзопептидаза 409, 426
Экзоцитоз 180, 199, 501, 502
Экспрессия генов 152, 561
Эластаза 51, 99, 321, 410, 415
Эластин 301, 302, 305, 310, 319, 321, 528,
Эмульгирование жиров 330, 336, 340
Эндокринная система, взаимосвязь с нервной системой 497, 498
Эндонуклеаза 120, 123, 131, 132,
Эндонуклеазы рестрикции 161
полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) 164, 169, 170
Эндопептидаза(ы) 409, 426
3-Эндорфин 501
Эндорфины 501
Эндосома 589
Эндоцитоз 177, 180, 195, 386, 394, 396, 397, 504
Энзимодиагностика 99, 102, 106, 108
Энтеропептидаза 411, 413, 424
Энхансер(ы) 144, 145, 150, 151, 192, 196
Эстрогены 308, 389, 392, 571,
Эукариоты, регуляция постгранскрипционная 113, 121, 123, 128, 135, 140, 141, 142, 145, 153
Эффекторы аллостерические 93, 108

ПРИГЛАШЕНИЕ К СОТРУДНИЧЕСТВУ

Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа» приглашает к сотрудничеству авторов и редакторов медицинской литературы.

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПЕЦИАЛИЗИРУЕТСЯ НА ВЫПУСКЕ учебников, учебных пособий, атласов, руководств для врачей, лучших переводных изданий.

По вопросам издания рукописей обращайтесь в отдел по работе с авторами.
Тел.: (495) 921-39-07.

Учебное издание

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
с упражнениями и задачами

Под редакцией чл.-корр. РАМН
С.Е. Северина

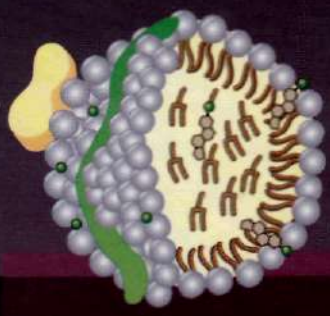
Выпускающий редактор *О.С. Шевченко*
Редактор *И.Ф. Солодкова*
Корректоры *Ю.Н. Гостеев, Л.В. Ким*
Компьютерная верстка *Б.И. Оводов*

Подписано в печать 28.05.10. Формат 70x100 1/16.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л. 39.
Тираж 2000 экз. Заказ № 2650.

Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа».
119021, Москва, ул. Россолимо, 4,
тел.: (495) 921-39-07, факс: (499) 246-39-47
Электронный адрес: info@geotar.ru, www.geotar.ru

Отпечатано в ОАО «Тверской ордена Трудового Красного Знамени
полиграфкомбинат детской литературы им. 50-летия СССР».
170040, г. Тверь, проспект 50 лет Октября, 46.

ISBN 978-5-9704-1755-3



БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

В учебнике рассмотрены основные положения классической биологической химии, приведены сведения о структуре и свойствах молекул организма человека, молекулярных основах физиологических функций человека. Рассмотрены биохимические особенности важнейших органов и тканей. Изложены современные представления о молекулярных основах некоторых наиболее распространенных патологических состояний. В учебник введены ситуационные задачи и тесты, обеспечивающие студентам активное изучение материала.

Учебник предназначен для студентов медицинских и фармацевтических вузов, аспирантов и преподавателей биологической химии.

Модуль 1.	Строение, свойства и функции белков
Модуль 2.	Энзимология
Модуль 3.	Матричные биосинтезы
Модуль 4.	Строение и функции биологических мембран
Модуль 5.	Энергетический обмен
Модуль 6.	Обмен углеводов
Модуль 7.	Биохимия межклеточного матрикса
Модуль 8.	Обмен липидов
Модуль 9.	Обмен аминокислот
Модуль 10.	Обмен нуклеотидов
Модуль 11.	Гормональная регуляция обмена веществ и функций организма
Модуль 12.	Обезвреживание токсических веществ в печени
Модуль 13.	Метаболизм гема и обмен железа
Модуль 14.	Биохимия крови

ISBN 978-5-9704-1755-3

9 785970 417553 >

www.geotar.ru
www.medknigaservis.ru